Année scolaire
1968

N° 7

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

Etienne JOUZIER

Docteur de l'Université de Bordeaux
(Pharmacie),
Licencié ès Sciences,
Certifié d'Etudes supérieures de Sérologie,
Certifié d'Etudes supérieures d'Hématologie,
Diplomé d'Œnologie,
Ancien interne des hôpitaux,
Chef de Travaux - Assistant des hôpitaux,
Chargé de Cours a la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.

né à Angoulême (Charente), le 19 février 1933

1re Thèse. — Sur les hyperlipémies expérimentales. — Rôle des mucoprotéines plasmatiques.

2e Thèse. — Synthèse totale de l'insuline.

Présentées et soutenues publiquement le 7 Octobre 1968
devant la Commission d'examen :

Examinateurs de la Thèse :

- M. F. TAYEAU, Professeur..... — *Président*
- M. J.-C. COLLETER, Professeur..... — *Juges*
- M. J. MARQUEVIELLE, Professeur.. — *Juges*
- M. R. JENSEN, Maître de Conférences agrégé ..... — *Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543917_0029

Année scolaire
1968

N° 7

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

Etienne JOUZIER

Docteur de l'Université de Bordeaux
(Pharmacie),
Licencié ès Sciences,
Certifié d'Etudes supérieures de Sérologie,
Certifié d'Etudes supérieures d'Hématologie,
Diplomé d'Œnologie,
Ancien interne des hôpitaux,
Chef de Travaux - Assistant des hôpitaux,
Chargé de Cours a la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.

né à Angoulême (Charente), le 19 février 1933

1re Thèse. — Sur les hyperlipémies expérimentales. — Rôle des mucoprotéines plasmatiques.

2e Thèse. — Synthèse totale de l'insuline.

Présentées et soutenues publiquement le 7 Octobre 1968
devant la Commission d'examen :

Examinateurs de la Thèse

M. F. TAYEAU, Professeur.....	*Président*
M. J.-C. COLLETER, Professeur.....	*Juges*
M. J. MARQUEVIELLE, Professeur..	*Juges*
M. R. JENSEN, Maître de Conférences agrégé	*Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1968

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS.
DOYEN : M. F. TAYEAU. — ASSESSEURS : MM. J. MASQUELIER, P. LAUMONIER.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. CHARRIER, DUBREUIL, CREYX, DARGET, R. SIGALAS, G. PORTMANN, M. RIVIÈRE, R. GIRARD, C. PIFFAULT, R. FABRE, R. DUFOUR, P. FOURMENT, E. AUBERTIN, X. J. DUBECQ, L. MASSÉ, A. LACHAPÈLE, G. VITTE.

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ HONORAIRE : M. BERGER.

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	
P. DELMAS-MARSALET	Clinique des maladies nerveuses et mentales.
P. DERVILLÉE	Médecine légale et Médecine du travail.
R. MANDOUL	Zoologie et parasitologie.
R. CASTAGNOU	Toxicologie et hygiène appliquée.
J. REBOUL	Carcinologie.
P. MESNARD	Chimie organique et Chimie analytique.
R. GRANDPIERRE	Physiologie.
P. BROUSTET	Clinique médicale cardiologique.
J. MAGENDIE	Clinique chirurgicale.
F. TAYEAU	Biochimie médicale A.
G. MAYER	Histologie et embryologie.
P. BLANQUET	Physique nucléaire appliquée et radiobiologie.
R. SARIC	Clinique médicale.
L. POUYANNE	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique.
J.-J. DUBARRY	Hydro-climatologie thérapeutique et clinique des maladies de l'appareil digestif.
F.-J. TRAISSAC	Clinique thérapeutique.
R. MAHON	Clinique d'accouchements.
R. PAUTRIZEL	Immunologie et biologie parasitaire.
Mlle G. ROUGIER	Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports.
G. MOUSTARDIER	Bactériologie.
E. BESSIÈRE	Clinique ophtalmologique.
H. LEGER	Anatomie pathologique.
J. MASQUELIER	Matière médicale.
G. MORETTI	Clinique médicale propédeutique et médecine tropicale.
N	Clinique oto-rhino-laryngologique.
P. LAUMONIER	Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire.
J. LENG-LÉVY	Clinique médicale et des maladies infectieuses.
R. LETAC	Pathologie et recherche chirurgicales.
R. QUILICHINI	Pharmacie galénique.
E. NEUZIL	Biochimie médicale B.
R. STOLL	Biologie.
J. LANGE	Clinique urologique.
P. FRÉOUR	Hygiène et Clinique de pneumophtisiologie.
F. RIGAUD	Anatomie.
J. FAURE	Médecine expérimentale et physiopathologie.
G. DUBOURG	Clinique chirurgicale des maladies cardiaques.
J. VILLAR	Clinique gynécologique.
P. LE COULANT	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
M. BERGOUIGNAN	Pathologie nerveuse et mentale.
J. DUHAMEL	Physique médicale et pharmaceutique.
R. BABIN	Pharmacie chimique.
H. CHOUSSAT	Pathologie médicale.
L. CHASTRUSSE	Clinique obstétricale.
P. VERGER	Clinique médicale des maladies des enfants.
F. LAPORTE	Chirurgie générale.
R. TINGAUD	Clinique chirurgicale.
H. LAUBIE	Botanique et cryptogamie.
Cl. RICHIR	Anatomie pathologique.
R. GOLSE	Chimie générale et Chimie minérale.
J. BAILENGER	Zoologie et biologie animale.
J.-Cl. COLLETER	Chimie analytique.
H. BRICAUD	Médecine générale.
P. BENOIT	Clinique odonto-stomatologique.
Cl. MARTIN-DUPONT	Clinique néphrologique
J. CANELLAS	Pharmacodynamie et hydrologie.
R. CANIVENC	Histologie.
G. DELORME	Electroradiologie.
J. DEPAULIS	Séméiologie chirurgicale.
J. RIVIÈRE	Séméiologie médicale.
P. DARMAILLACQ	Chirurgie générale.

UNIV. LEIDEN BIBL.

MM. **PROFESSEURS SANS CHAIRE**

J. DAVID-CHAUSSÉ	Médecine générale.
J. MARQUEVIELLE	Biochimie médicale.
H. DULONG DE ROSNAY	Bactériologie.
M. BLANC	Neuro-psychiatrie.
Cl. MASSÉ	Chirurgie générale.
R. MARAUD	Histologie et embryologie.
P. DU PASQUIER	Bactériologie.
J. STAEFFEN	Médecine générale.
J.-P. DUBECQ	Obstétrique.
R. CROCKETT	Chimie organique et chimie analytique.
G. NEVERRE	Physiologie.
J. MEUNIER	Histologie.
A. SERISÉ	Hygiène.
P. FERRET-BOUIN	Physique médicale.
J. VIDEAU	Anatomie.
R. CASTAING	Médecine générale et thérapeutique.

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS :

MM.

P. BLANCHOT	Médecine générale.
L. DOUTRE	Chirurgie générale.
R. JENSEN	Chimie biologique.
P. LOISEAU	Neuro-psychiatrie.
J. BROUSSIN	Electroradiologie.
R. TESSIER	Pneumo-phtisiologie.
Mme J. SÉCHET	Biochimie médicale.
C. LAGARDE	Carcinologie.
C. BÉRAUD	Thérapeutique.
H. LAZARINI	Médecine légale et Médecine du travail.
J. SOUMIREU-MOURAT	Obstétrique.
G. CABANIEU	Médecine générale.
R. LE LOURD	Pneumo-phtisiologie.
L. COURAUD	Chirurgie générale.
J. BENTÉGEAT	Hématologie.
Cl. VRIGNAUD	Physique pharmaceutique.
P. SOURREIL	Dermato-vénéréologie.
L. ARNÉ	Médecine générale et thérapeutique.
Cl. MARTIN	Pédiatrie.
R. BAUTE	Cryptogamie.
V. DARGELOS	Microbiologie.
Mlle S. LARCEBAU	Toxicologie.
C. WONÉ	Médecine générale et thérapeutique.
J. JULIEN	Médecine générale et thérapeutique.
J.-J. BATTIN	Pédiatrie.
M. DALLOCCHIO	Cardiologie et maladies vasculaires.
J. AUBERTIN	Maladies infectieuses.
P. VÉRIN	Ophtalmologie.
M. GOT	Neuro-chirurgie.
J. TAVERNIER	Electroradiologie : diagnostic et thérapeutique.
J. VINCENT	Physiologie et explorations fonctionnelles.
L. CHEVAIS	Anesthésiologie.
G. GILLARDEAU	Anesthésiologie.
J. HONTON	Orthopédie et traumatologie.
M. BOMBART	Orthopédie et traumatologie.
A. HUGUES	Cancérologie.
M. SABATHIÉ	Anesthésiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.

M. PORTMANN	Oto-rhino-laryngologie.
F. BALLANGER	Urologie.
P. BIRBIS	Chirurgie générale.
J.-P. CALAMEL	Chirurgie générale.
L. TEXIER	Dermato-syphiligraphie.
H. POUYANNE	Neuro-chirurgie.
R. GENESTE	Orthopédie.
F. FONTAN	Chirurgie générale.
J. LASSERRE	Orthopédie.

../..

AGRÉGÉS LIBRES

MM.	
G. FAUGÈRE	Obstétrique.
M. L'ÉPÉE	Médecine légale.
H. CABANIÉ	Anatomie.
L. CORCELLE	Ophtalmologie.

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES :

MM.	
P. BONJEAN	Anatomie.
M. LAHOURCADE	Parasitologie.
M. SENTENAC	Anatomie.
G. DELMON	Anatomie pathologique.
J. TRIBOULEY	Immunologie, sérologie.
F.-X. MICHELET	Stomatologie.
E. JOUZIER	Chimie biologique (Pharmacie).
L. PINSON	Oto-rhino-laryngologie.

Le Conseiller administratif, Secrétaire de la Faculté :
André ARGILAS.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

A MA FEMME

A MON FILS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ
DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ
DES SCIENCES DE BORDEAUX

AUX MEMBRES DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE
MÉDICALE A DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

A NOS JUGES :

MONSIEUR R. JENSEN

MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE

BIOLOGISTE DES HÔPITAUX, CHEF DE SERVICE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CHEVALIER DES PALMES ACADÉMIQUES

Vos conseils éclairés et vos marques de sympathie nous ont toujours été précieux.
Vous nous faites maintenant l'honneur d'être parmi nos juges.
En témoignage de nos sincères remerciements.

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. MARQUEVIELLE

PROFESSEUR DE BIOCHIMIE MÉDICALE

BIOLOGISTE DES HÔPITAUX

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CHEVALIER DES PALMES ACADÉMIQUES

La sympathie que vous ne cessez de nous témoigner nous est infiniment précieuse.
Hommage reconnaissant et plus vifs remerciements.

MONSIEUR LE PROFESSEUR J.-C. COLLETER

PROFESSEUR DE CHIMIE ANALYTIQUE

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

CHEVALIER DES PALMES ACADÉMIQUES

Nous sommes particulièrement heureux de vous compter parmi nos Juges.

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

DOYEN DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

PROFESSEUR DE BIOCHIMIE MÉDICALE

MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

MÉDECIN BIOLOGISTE DES HÔPITAUX

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

COMMANDEUR DES PALMES ACADÉMIQUES

OFFICIER DE L'ORDRE NATIONAL DU MÉRITE

CHEVALIER DE LA SANTÉ PUBLIQUE

CHEVALIER DU MÉRITE AGRICOLE

MÉDAILLE DE VERMEIL DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE

OFFICIER DU MÉRITE SCIENTIFIQUE

GRAND CROIX DE L'ORDRE DU SAINT SÉPULCRE

COMMANDEUR DE L'ORDRE NATIONAL SÉNÉGALAIS

TITULAIRE (1re CLASSE) DE L'ORDRE SAPASSE (IRAN)

TITULAIRE (2e DEGRÉ) DE LA DÉCORATION DANESCHE (IRAN)

DOCTEUR HONORIS CAUSA DE L'UNIVERSITÉ DE TÉHÉRAN (IRAN)

Nous vous devons notre goût de la recherche et notre culture dans le domaine de la biochimie.

Vous vous êtes toujours intéressé à notre travail avec beaucoup de sollicitude. Vous nous faites maintenant le grand honneur d'accepter la présidence de notre thèse et nous tenons à vous assurer de notre profonde gratitude.

SUR LES HYPERLIPÉMIES EXPÉRIMENTALES.

RÔLE DES MUCOPROTÉINES PLASMATIQUES

INTRODUCTION

Dans les conditions physiologiques, le plasma et le sérum sanguins sont des milieux parfaitement limpides. Ils contiennent cependant des quantités plus ou moins importantes de substances lipidiques qui sont hydrophobes. Machebœuf a pu prouver que cette limpidité s'explique par la présence de protéines qui masquent les pôles hydrophobes des chaînes lipidiques en les entourant d'une « atmosphère » hydrophile. Pour désigner ces associations lipido-protidiques, il proposa le terme de *cénapses,* qui ne préjuge en rien la nature de la liaison.

Au cours de la période qui suit la digestion, le plasma de l'Homme et des animaux devient lactescent. Cette lactescence est due à la présence dans le sang de globules riches en lipides, les *chylomicrons*. Ceux-ci disparaissent assez rapidement de la circulation et le plasma redevient limpide.

C'est à Hahn que l'on doit la découverte du mécanisme de clarification du sérum lactescent sous l'influence de l'héparine. Cette découverte a ouvert la voie à de multiples recherches et a conduit à la mise en évidence du *facteur clarifiant.* Le facteur clarifiant ou lipoprotéine-lipase est un enzyme qui hydrolyse les triglycérides en glycérol et acides gras, le premier soluble dans l'eau, les seconds facilement fixés par les protéines (albumines).

Plusieurs inhibiteurs du facteur clarifiant ont été décrits (protamine, sels biliaires) ; un inhibiteur naturel appartenant au groupe des glucoprotéides a pu être isolé du plasma « post-héparine ».

Au cours de recherches antérieures, Tayeau et coll. [413] ont constaté, chez le Lapin soumis à d'abondantes saignées journalières, une élimination accrue dans l'urine de substances, identifiées comme étant des mucoprotéines et reflétant

une hyperglucoprotéinémie. Dans ces conditions, le plasma, riche en mucoprotéines, devient lactescent et hyperlipémique ; cette hyperlipémie est surtout constituée par une augmentation des triglycérides.

Ces constatations nous ont amené à nous demander si cette augmentation massive des lipides neutres ne se trouvait pas liée à la présence dans le sang de mucoprotéines en quantités anormales, celles-ci pouvant alors se comporter comme un inhibiteur du facteur clarifiant ; nous avons donc entrepris des recherches afin d'examiner le bien-fondé de cette hypothèse et d'étudier en détail le mécanisme d'apparition de certaines hyperlipémies.

Nous envisagerons, dans une première partie, l'essentiel de nos connaissances sur l'état des lipides dans le sérum sanguin, sur la lipoprotéine-lipase, son action clarifiante et ses inhibiteurs.

Puis, dans une seconde partie, nous décrirons nos recherches personnelles, qui nous ont amené à étudier successivement : l'évolution des différentes fractions lipidiques au cours de l'apparition de l'hyperlipémie et de la lactescence d'un sérum après saignées répétées ; les modifications des associations lipido-protidiques au cours de ce phénomène ; la clarification d'une suspension de triglycérides par un plasma post-hépariné et son inhibition par les mucoprotéines ; l'action *in vivo* de ces dernières sur la lipémie dans diverses conditions.

*
* *

Nous ne voudrions pas entrer dans le détail de nos recherches sans adresser nos remerciements à tous ceux qui nous ont aidé à les réaliser.

Nous aimerions pouvoir remercier individuellement chacun des membres du laboratoire de Biochimie médicale A, mais une mention toute particulière doit être faite concernant M^lle^ M. Tixier, chef de travaux pratiques. Sa réelle compétence et son dévouement sans borne ont contribué très efficacement à la réalisation de ce travail. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre fidèle amitié.

Toute notre reconnaissance est acquise à M. le professeur J. Marquevielle et à M^me^ le docteur J. Sechet, maître de conférences agrégé, qui ont suivi au jour le jour nos

recherches et dont les conseils amicaux et les remarques judicieuses ont été très utiles pour mener ce travail à bonne fin.

M. le professeur E. Neuzil, M. R. Jensen et M. le docteur J. Aubertin, maîtres de conférences agrégés, se sont toujours intéressés aux questions qui faisaient l'objet de nos travaux. Nous les assurons de notre gratitude.

Nos remerciements vont également à M^lle M. Dumas, pharmacien, pour sa collaboration à une partie de ce travail, ainsi qu'à M. J. Grouillé, qui dirige les services animaliers du Centre de biologie préventive de la Caisse régionale de Sécurité sociale.

Notre grande et respectueuse reconnaissance va enfin à notre Maître, M. le doyen Tayeau, qui, après avoir inspiré le sujet de nos recherches, en a suivi pas à pas la réalisation, malgré les charges écrasantes et les activités multiples auxquelles il doit faire face. Depuis notre entrée dans son laboratoire, voici quinze ans, il n'a cessé d'être pour nous un guide sûr et de nous témoigner sa bienveillante attention. Qu'il veuille bien accepter ici, avec l'expression de notre respectueuse gratitude, celle de notre profond et fidèle attachement.

PREMIÈRE PARTIE

NOTIONS FONDAMENTALES ET ACQUISITIONS RÉCENTES CONCERNANT LES LIPOPROTÉINES SÉRIQUES ET LA LIPOPROTÉINE-LIPASE

INTRODUCTION

Le sérum sanguin contient des quantités plus ou moins importantes de substances lipidiques non hydrosolubles. Il est cependant, dans les conditions physiologiques, limpide et homogène.

Le problème de l'état des lipides dans le sérum a constitué très tôt une énigme : il est en effet curieux, *a priori*, de constater que les lipides, substances insolubles dans l'eau, existent dans le sérum à l'état dissous.

Ce phénomène de solubilisation de substances hydrophobes a suscité d'innombrables travaux depuis que Hoppe-Seyler [198] a découvert que le sang, milieu aqueux, contenait des corps gras, inextractibles par l'éther. Comment expliquer cette stabilité particulière des lipides en phase aqueuse ?

Thudicum [420] le premier, ayant noté que les émulsions de lipides présentent une relative stabilité en milieu alcalin, attribue à l'alcalinité du sang le masquage des lipides sériques. Cette conception tomba en désuétude lorsque l'on se rendit compte de la quasi-neutralité du sérum (*p*H 7,35). Plus tard, Long & Gephart [259, 260] attribuent aux sels biliaires la stabilité des lipides sériques ; mais cette assertion perdit rapidement sa signification lorsqu'il fut démontré que le sérum ne contenait que des traces de sels biliaires.

C'est seulement beaucoup plus tard que les protéines furent incriminées pour expliquer l'état particulier des lipides plasmatiques. Différents travaux (Biedermann [57], Ciaccio [104], Mayer & Terroine [279], Porges & Neubauer [319], Feinschmidt [151]), ayant mis en évidence le rôle des protéines dans le comportement des lipides, l'existence dans le plasma de complexes entre lipides et protéines fut alors admise. Elle ne fut démontrée qu'en 1928 lorsque Machebœuf [263] parvint à isoler du sérum sanguin une fraction lipido-protéidique de constitution bien définie. Le concept de lipoprotéine était désormais acquis.

Depuis, un très grand nombre de recherches ont été effectuées sur les lipoprotéines. Ce développement extraordinaire découle pour une grande part de l'intérêt médical qui s'y rattache. Les lipides et les lipoprotéines représentent les constituants plasmatiques les plus variables en pathologie, puisque l'on voit les lipides passer de 5 grammes à plus de 100 grammes par litre dans certaines hyperlipidémies.

Nous allons examiner l'état actuel de nos connaissances sur la constitution et la stabilité des lipoprotéines et le rôle physiologique attribué à ces molécules. Cela nous conduira à l'étude de la lipoprotéine-lipase et de ses effecteurs.

CHAPITRE PREMIER

LES LIPOPROTÉINES SÉRIQUES

Elles constituent des associations très stables de lipides et de protéines finement dispersées dans le sérum sous forme de micromicelles de quelques mμ de diamètre. Au microscope électronique, ces cénapses apparaissent sphériques, les plus nombreuses ayant une vingtaine de mμ de diamètre, d'autres, plus petites, ne dépassant pas 10 mμ (Beischer [54]).

Les lipides sont principalement constitués de phospholipides, de stérides, de glycérides et de cholestérol. Les stérols, les stérides et les glycérides sont associés aux phospholipides hydrophiles par des forces de Van der Waals entre chaînes hydrophobes. Les phospholipides sont les seuls lipides capables de s'unir aux protéines par des fonctions polaires : les protéines attacheraient leurs pôles cationiques aux fonctions anioniques (phosphoriques) des phospholipides. Les chaînes d'acides aminés aliphatiques consolideraient l'édifice par des forces de Van der Waals entre protides et lipides, particulièrement développées au niveau des zones polyméthyléniques. Fondant ses conceptions sur la représentation des protéines selon Dervichian [122], Machebœuf [12] a proposé de représenter cette micelle par un schéma en sandwich : de l'extérieur vers l'intérieur, on rencontre successivement des protéines, des phospholipides et enfin des stérides et des glycérides. Il est évident que ce schéma ne donne qu'une première approximation de la structure d'une cénapse : rien ne s'oppose à ce que les couches s'interpénètrent plus ou moins profondément. Il est en effet probable que les pôles cationiques des lécithines se trouvent au contact de la phase aqueuse qui imprègne la couche externe de la micelle ; cette couche externe comporterait

la molécule protéinique attachée aux molécules de phospholipides dont les chaînes hydrophobes seraient toutes orientées vers l'intérieur de la micelle, associées elles-mêmes aux molécules stéroliques et glycéridiques [302]. (Voir Tayeau [23].) Des travaux tout récents effectués par Jensen & Cazenave dans le service où nous travaillons et mettant en jeu des calculs délicats fondés sur la structure des associations lipido-protidiques, confirment les hypothèses précédemment échafaudées par Tayeau [23].

Depuis les travaux de Blix & Tisélius [60], on sait qu'il existe deux fractions lipoprotéiniques principales dans le sérum sanguin humain, appelées α-lipoprotéines et β-lipoprotéines. Les β-lipoprotéines, de poids moléculaire 2 000 000 à 3 000 000, représentent la fraction la plus abondante : elle renferme plus de 60 % des lipides sériques, plus de 70 % du cholestérol. Les α-lipoprotéines, de poids moléculaire 200 000 à 300 000, sont relativement plus riches en phospholipides [274].

Les analyses de ces deux fractions, obtenues par ultracentrifugation, ont précisé que les β-lipoprotéines étaient constituées de moins de 20 p. 100 de protéines ; les α-lipoprotéines en contiennent environ 50 p. 100. L'ensemble des protéines des deux fractions forment à peu près 3 p. 100 des protéines sériques.

En ce qui concerne la partie protéique des associations lipoprotéiques, il semble que l'on puisse admettre une certaine homogénéité pour chacune des deux familles. Pourtant, deux formes d'α-lipoprotéines ont pu être mises en évidence par des réactions immunochimiques [247]. Il existe, en effet, trois protéines, appelées apoprotéines [9], généralement désignées par A (ou α), B (ou β) et C.

La protéine A se rencontre dans les lipoprotéines de haute densité (α-lipoprotéines) ; elle semble être un polymère de 2 à 6 unités, le poids moléculaire de chacune de ces unités étant compris entre 23 000 et 36 000. Ces sous-unités, qui portent à leurs extrémités un reste acide aspartique et un reste thréonine [9], contiennent des quantités importantes d'acide glutamique et de leucine. La protéine A semble avoir une structure hélicoïdale qu'elle conserve dans son association avec les lipides.

La protéine B, isolée des β-lipoprotéines, comprendrait plusieurs unités de poids moléculaire de 100 000 à 380 000,

le nombre d'unités dépendant de la composition en lipides totaux. Les acides aminoterminal et carboxyterminal sont respectivement l'acide glutamique et la sérine [17]. La protéine B diffère de la protéine A, en particulier par sa teneur en isoleucine, leucine, acide glutamique et alanine. Les méthodes immunochimiques ont permis d'en déceler de très faibles quantités dans les α-lipoprotéines. Ces deux protéines peuvent être également isolees des lipoprotéines de très basse densité et des chylomicrons.

Dans certaines maladies, il existe une distribution anormale de ces protéines dans les lipoprotéines : on rencontre par exemple dans l'ictère par obstruction des β-lipoprotéines contenant la protéine A [9].

L'apoprotéine C a été isolée sous forme de complexe phospholipide-protéine après lyophilisation et délipidation partielle des lipoprotéines de très basse densité par l'heptane. Son poids moléculaire est voisin de 834 000. Homogène à l'ultracentrifugation, elle donne par électrophorèse sur amidon deux bandes au niveau de la pré-albumine. Enfin, la digestion trypsique et la digestion pepsique libèrent des peptides différents de ceux obtenus avec les protéines A et B.

En ce qui concerne les lipides, il n'a pas non plus été possible de mettre en évidence des différences qualitatives au sein d'une des familles de lipoprotéines. On admet donc qu'il existe seulement des variations quantitatives dans les proportions des différents constituants. La teneur en glycérides est l'un des éléments les plus variables : c'est elle qui détermine la densité de chaque molécule lipoprotéinique. L'ultracentrifugation permet de dissocier chaque famille en plusieurs groupes distincts. De Lalla & Gofman [230], Lindgren & coll. [253] ont ainsi dissocié les β-lipoprotéines en trois ou quatre groupes d'après leur constante de flottation (Sf) moyenne en milieu de densité 1.063 : Sf 0-12, Sf 12-30, Sf 20-100, Sf 100-400. Les α-lipoprotéines peuvent aussi être séparées en deux ou trois familles selon leur densité.

A côté de ces lipoprotéines, on trouve encore à l'ultracentrifugation des fractions lipoprotéiniques mineures : les unes, riches en protéines et pauvres en lipides, dont les plus connues sont les lipoalbumines, sont constituées surtout de phospholipides et d'acides gras libres ; les autres, riches en lipides et pauvres en protéines, sont les chylomicrons, parti-

cules graisseuses de diamètre compris entre 0,3 et 1 μ, que l'on rencontre dans le sérum sanguin normal, mais en nombre insuffisant pour troubler la transparence du milieu. Au contraire, leur abondance dans le plasma lipémique, en particulier après la digestion, est responsable de sa turbidité.

Les chylomicrons peuvent être séparés par ultracentrifugation suivant la technique de Svedberg, car leur densité est faible. Le simple repos à + 4° C d'un sérum lactescent conduit imparfaitement au même résultat. Ils sont extractibles par l'éther et l'acétone à basse température, ce qui rend au sérum lipémique sa limpidité.

L'analyse de ces corpuscules a permis de connaître leur composition chimique et d'envisager leur structure.

Les chylomicrons ne sont pas de simples gouttelettes de graisses neutres. Ils présentent une composition complexe et contiennent des triglycérides, mais aussi des mono- et diglycérides, du cholestérol, des phospholipides et des protéines [234]. La disproportion considérable qui existe entre les substances hydrophobes (graisses) et hydrophiles (protéines) est responsable de la turbidité du sérum.

La partie protéique (0,3 à 7 %) serait constituée par de l'albumine [160]. Mais, pour Lindgren, Freeman, Nichols & Gofman [252], Oncley, Gurd & Melin [302], Korn [221], des α_2-globulines assureraient l'armature des chylomicrons (*fig.* 1).

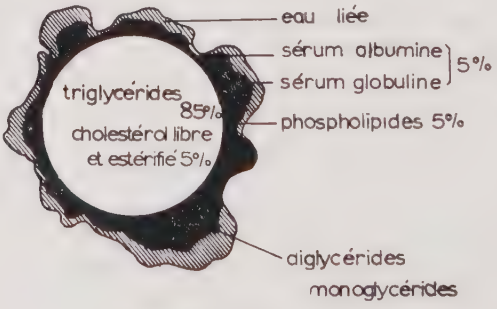

Fig. 1.

Schéma montrant la composition et l'arrangement des substances stabilisatrices des chylomicrons (d'après Aubertin [44]).

Il n'y aurait pas de différence structurale entre les chylomicrons et les lipoprotéines. Lindgren & coll. [252] font de ces diverses entités une suite d'éléments comparables par

leur structure physico-chimique ; la copule lipidique plus ou moins abondante serait responsable de la taille, de la densité et, par suite, de la mobilité électrophorétique (*fig.* 2).

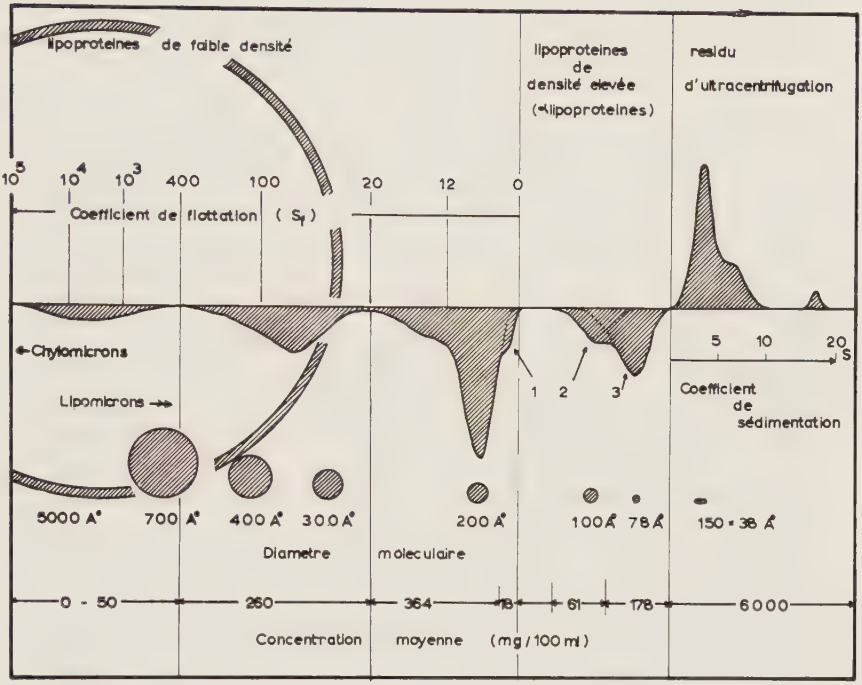

Fig. 2.

Schéma montrant la composition du sérum humain déduite de l'analyse, de l'ultracentrifugation et de la correspondance entre l'indice de flottation, la densité du milieu et le diamètre des particules isolées. A la partie inférieure du schéma sont mentionnées les concentrations moyennes en chaque fraction dans un sérum humain normal (d'après Aubertin [44]).

Destinée physiologique des lipoprotéines.

D'où proviennent les lipoprotéines circulantes ? Quelles transformations subissent-elles ? Quels sont leur rôle métabolique et leur influence physiopathologique ?

Certains auteurs ont été tentés par l'hypothèse d'une transformation des chylomicrons en lipoprotéines, expliquant par là même le rôle physiologique de ces lipoprotéines, forme de transport des lipides dans l'organisme.

Lorsque les graisses alimentaires franchissent la « barrière » intestinale, elles se trouvent pour une grande part à l'état libre ; au cours de leur passage dans le canal thoracique, elles forment une émulsion de fines gouttelettes stabilisées par la présence de phospholipides et de protéines (chylomicrons). Lorsqu'elles atteignent le confluent de Pirogoff et gagnent ainsi la circulation, elles provoquent la lactescence du plasma (turbidité post-prandiale). Mais la durée de vie de ces chylomicrons dans le sang est courte ; ils sont pour une grande part remplacés ensuite par des β-lipoprotéines de durée de vie plus longue. La transformation se fait au niveau du foie et d'autres tissus (tissu adipeux, muscles, poumon) [189]. Les chylomicrons sont, d'une part, retenus par le foie, où ils pénètrent intacts dans les hépatocytes : leurs constituants lipidiques sont alors utilisés à la synthèse des β-lipoprotéines légères qui repassent dans la circulation. D'autre part, sous l'action de la lipoprotéine-lipase ou facteur clarifiant, enzyme normalement situé sur la paroi des capillaires et activé par l'héparine, les triglycérides des chylomicrons sont également hydrolysés et les acides gras libérés sont fixés sur la sérum-albumine.

Les diverses lipoprotéines sont synthétisées par le foie à partir des constituants (triglycérides, cholestérol et phospholipides) apportés par la circulation ou produits *in situ*. Les lipoprotéines assurent le transport des lipides du foie aux tissus périphériques. Dans le sang, des réactions d'échange intermoléculaire peuvent avoir lieu [148].

Les β-lipoprotéines légères, riches en triglycérides, apparaissent les premières après l'absorption intestinale des graisses ou la mobilisation des graisses de réserves ; elles cèdent aux tissus des triglycérides et sont transformées en β-lipoprotéines plus denses.

Les β-lipoprotéines lourdes véhiculent le cholestérol et les phospholipides qui sont échangés ou cédés au niveau des tissus.

Le rôle de l'α-lipoprotéine est mal connu ; lipoprotéine plus stable, elle semble participer au transport des phospholipides.

Chaque constituant des lipoprotéines possède sa propre demi-vie , reflet de son rôle physiologique et de son métabolisme ; elle est de quelques heures pour les triglycérides, de trois jours pour les phospholipides et d'une semaine au

moins pour le cholestérol. La demi-vie de la partie protéique est également variable : de quelques heures pour les protéines des pré-β-lipoprotéines à deux semaines pour celles des α-lipoprotéines.

Le foie paraît capable, dans certaines conditions, de synthétiser et de mettre en circulation des corpuscules analogues aux chylomicrons, présentant une forte teneur en triglycérides.

Ces corpuscules d'origine hépatique se différencient des chylomicrons d'origine alimentaire par la partie protéique : c'est ainsi que Swahn [388], chez des malades atteints de néphrose lipoïdique, et Carlson & Olhagen [96], dans l'hyperlipémie essentielle, ont trouvé des chylomicrons contenant une β-globuline.

L'origine et la nature de la protéine des chylomicrons sont encore mal connues. Certains ont suggéré que les lipoprotéines de haute densité entraient dans la composition de la « molécule » de chylomicrons (Rodbell & Fredrickson [342], Scanu & Page [354]). Des observations récentes (Salt [350], Polonovski [314], Isselbacher [202], Robinson & Seakins [340], Fredrickson [161] suggèrent que chylomicrons et lipoprotéines de basse densité ont un métabolisme étroitement lié.

Ainsi que nous l'avons indiqué antérieurement, on tend d'ailleurs de plus en plus à admettre qu'il n'existe pas de différence stricte entre les chylomicrons et les β-lipoprotéines. Les différences de taille, de densité et de mobilité électrophorétique des particules seraient simplement conditionnées par l'abondance relative de la copule lipidique (*fig.* 2).

CONCLUSIONS DU CHAPITRE PREMIER

La constitution et la stabilité des lipoprotéines plasmatiques commencent à être bien connues. On a coutume de distinguer deux types de lipoprotéines : celles qui sont pauvres en lipides (lipoalbumines et lipoglobulines) et celles qui en sont riches (α- et β-lipoprotéines). Dans ce dernier groupe, on peut inclure les chylomicrons dont la particularité réside dans l'importance de la copule lipidique. D'ailleurs, le facteur clarifiant agit non seulement sur les chylomicrons, mais encore sur d'autres lipoprotéines plus denses, les β-lipoprotéines lentes en particulier.

CHAPITRE II

LE FACTEUR CLARIFIANT

C'est seulement en 1943 que les recherches de Hahn [187] éclairèrent d'un jour nouveau le problème de la clarification post-prandiale du plasma sanguin, en montrant l'apparition dans ce liquide biologique d'un « facteur clarifiant ». Cet auteur avait en effet constaté qu'une transfusion de sang, rendu préalablement incoagulable par l'héparine, à un chien en période post-digestive, faisait disparaître en quelques minutes la lactescence du plasma de l'animal transfusé. Les anticoagulants, autres que l'héparine, ne permettaient pas la reproduction du phénomène.

Par ailleurs, il suffit d'injecter de l'héparine à un animal en état de lipémie post-prandiale pour provoquer la clarification de son plasma sanguin [432].

Cette propriété de l'héparine ne s'exerce qu'*in vivo*, car l'addition d'héparine à un plasma lactescent n'amène absolument aucune clarification. Il fallait donc conclure que l'injection d'héparine suscitait la libération dans la circulation d'un facteur capable de clarifier le plasma rendu lactescent par l'arrivée des graisses provenant de la digestion ou encore éventuellement des réserves. Cette conclusion a été confirmée sept ans plus tard par Anderson & Fawcett [34] qui ont mis en évidence le fait qu'un plasma lactescent pouvait être rapidement rendu limpide, *in vitro*, par addition de plasma provenant d'un autre animal préalablement traité par l'héparine.

L'étude de ce nouveau facteur, désigné sous le nom de facteur clarifiant, a mis en évidence ses propriétés hydrolytiques vis-à-vis des triglycérides, transformés en glycérol et acides gras. Ce facteur constitue donc un enzyme, désigné par Korn [220] sous le nom de *lipoprotéine-lipase*.

I. — NATURE DU FACTEUR CLARIFIANT [6, 24]

Grâce aux techniques modernes, électrophorèse sur gel d'amidon [80, 248] et surtout chromatographie [137, 321], on a pu obtenir un produit purifié présentant une très grande activité.

Le facteur clarifiant est une protéine : il n'est pas dialysable et est détruit par la chymotrypsine [81]. L'héparine est non seulement capable de susciter l'apparition du facteur clarifiant, mais encore est nécessaire à son action. Deux parties sont donc indispensables à l'activité de cet enzyme : une copule protéique, qui joue le rôle d'apoenzyme [26], et une copule glucidique, parfois désignée sous le nom de groupement prosthétique [26], représentée par l'héparine.

A) Copule protéidique.

Cette fraction n'existe pas à l'état normal dans le courant sanguin ; mais on la trouve dans un certain nombre de tissus qui la libèrent sous l'influence de l'héparine.

Parmi les tissus renfermant ce facteur, citons principalement le cœur [38, 219], le poumon [38], le foie [450, 239] et également le diaphragme [194], le tissu vasculaire [332] et le tissu adipeux [225, 39]. Dans ce dernier, le facteur clarifiant jouerait un rôle essentiel dans le renouvellement des dépôts graisseux [305].

Des études comparatives ont été réalisées concernant la répartition du facteur clarifiant dans les divers organes et tissus en fonction des espèces [449, 450]. C'est ainsi que l'on a pu constater que le tissu adipeux de l'Homme contient beaucoup moins de facteur clarifiant que celui d'autres espèces animales. Cette constatation pourrait être liée à la présence d'inhibiteurs dans les tissus de l'Homme [39, 146].

On rencontre beaucoup plus de facteur clarifiant dans le sang veineux que dans le sang artériel des animaux soumis à l'héparine [333, 158] ; cela serait dû à une libération du facteur clarifiant dans les tissus périphériques.

B) Copule glucidique.

Celle-ci est constituée par l'héparine dont le rôle essentiel a été prouvé par les recherches d'Engelberg [144] : cet auteur a montré que l'activité du plasma post-héparine

pouvait être annulée par passage, dans certaines conditions, sur gel de phosphate tricalcique ; or, il est bien connu que le gel de phosphate tricalcique adsorbe l'héparine ; d'ailleurs, le plasma ainsi inactivé voit son activité restaurée par la simple addition d'héparine. Par ailleurs, l'élimination urinaire de l'héparine injectée est proportionnelle à la diminution de l'activité clarifiante du plasma [129]. L'héparine présente en outre la propriété de rendre stable le facteur clarifiant et de favoriser son adsorption sur les chylomicrons, phénomène nécessaire à la réaction enzymatique (Robinson & coll. [328, 333]). Enfin, l'héparinase, enzyme bactérien qui détruit l'héparine, inactive le facteur clarifiant [224, 368].

On a cherché quelle pouvait être dans la molécule d'héparine la partie active ; pour cela, on a soumis le polyholoside à la dégradation, puis on a testé l'activité des produits obtenus. On a remarqué, par exemple, que l'hydrolyse alcaline partielle fait disparaître les propriétés anticoagulantes, mais conserve, en revanche, les propriétés clarifiantes (Chauveau & Frayssinet [101]) ; Cantone [85] a même obtenu une certaine fraction (CLC-fraction) qui présente une activité supérieure à celle de l'héparine ! Ces études ont souvent permis la dissociation des propriétés anticoagulantes et lipolytiques de l'héparine [257].

On a cherché, dans d'autres séries de travaux, à greffer divers groupements chimiques sur la molécule d'héparine, afin d'étudier l'effet éventuel produit par ces modifications. Ces essais ont conduit également à la dissociation des deux propriétés classiques de l'héparine : les dérivés acrylamidiques de N-désulfo-héparine ne possèdent plus de propriétés anticoagulantes, mais conservent encore le pouvoir de susciter le facteur clarifiant [424] ; de même, la N- (3.5-diméthylbenzoyl) N-sulfohéparine est dépourvue de propriétés anticoagulantes, mais voit ses propriétés renforcées dans le phénomène de clarification [312, 346].

A côté de ces dérivés de l'héparine, on a pu préparer, à partir des organes les plus variés, des extraits et des substances dites héparinoïdes, agissant de la même façon [77, 78]. La muqueuse duodénale [315, 56] et la muqueuse gastrique [323, 86] renferment des substances douées de propriétés comparables à celles de l'héparine. La chondroïtine - sulfate du tissu aortique est susceptible de provoquer l'apparition du facteur clarifiant mais il est cinquante fois moins

actif [178]. Les polysaccharides extraits de Proteus OX 19, de *Alcaligenes faecalis*, de *Serratia marcescens*, de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Brucella melitensis* se présentent parmi les produits bactériens les plus actifs [280] ; en revanche, ceux qui proviennent des bacilles Gram positif n'ont absolument aucune activité [280]. Signalons qu'aucun de ces polysaccharides bactériens ne possède d'activité anticoagulante.

Les esters sulfuriques des divers polysaccharides de haut poids moléculaire sont généralement doués d'une certaine activité ; il en est de même de nombreux héparinoïdes artificiels [336, 311]. L'hyaluronidase constitue également un produit actif [384], mais l'acide hyaluronique n'agit qu'à forte dose [452] ; cependant, ses produits de dépolymérisation présentent une activité notable [357].

Bien d'autres produits possèdent des activités comparables : citons l'acide charonine-sulfurique [385], l'acide N-formylchitosane-polysulfurique [322], les esters sulfuriques de l'acide alginique [451 (1), 453, 108], de l'acide pectique [79 (2)], de l'agar-agar, des polyéthylène-glycols [425, 124, 218], de la saponine [310].

Le sulfate de dextrane, en raison de sa facile obtention et de sa relative réactivité, a fait l'objet d'études plus poussées. Ce polymère, un peu moins actif que l'héparine [168], présente une activité proportionnelle au degré de sulfonation de la molécule [337], mais inversement proportionnelle au poids moléculaire ; il arrive même un moment où l'activité disparaît ; celle-ci peut être alors restaurée par addition de sulfate de protamine. Grâce à ces notions, il a été possible de préparer un sulfate de dextrane et un mannuronate de dextrane présentant des propriétés clarifiantes 1,65 et 4 fois supérieures à celles de l'héparine [437, 438].

On pourrait croire, à la suite de ces observations, que la présence d'un groupe sulfoné joue un rôle essentiel dans l'activité des divers héparinoïdes ; il n'en est cependant rien, car nombreux sont les dérivés non sulfonés présentant une activité notable. Parmi ces dérivés, il convient de mentionner diverses hormones et leurs dérivés, comme la désoxycorticostérone [357], l'ester méthylique de la 16 α-chloroœstrone [35] et le dérivé éthylé du 3,17-dioxy-11 β-hydroxy-

(1) Tréburon.
(2) Paritol.

1,4-androstane-diène [423], des polyphosphates à longue chaîne [190, 76], la gomme arabique [200], le glycogène [200] et même certains phospholipides extraits du Soja [127].

Toutes ces substances actives ont-elles une caractéristique commune ? Elles ont pour la plupart un poids moléculaire élevé ; par ailleurs, le groupement sulfoné semble jouer un rôle important, mais non indispensable.

Le facteur clarifiant est donc constitué par la réunion de deux composants : une protéine tissulaire et une substance héparine ou héparinoïde, généralement de poids moléculaire élevé.

Quoi qu'il en soit, on pouvait se demander si le facteur induit par l'héparine et nécessitant pour son action la présence de ce polysaccharide était identique ou tout au moins voisin du facteur responsable de la clarification physiologique.

La découverte du facteur clarifiant endogène spontané allait permettre d'étudier ce problème.

II. — FACTEUR CLARIFIANT SPONTANÉ

L'individu normal, qui ne reçoit pas d'injection intraveineuse d'héparine, clarifie son plasma lorsque celui-ci, en période digestive, renferme des chylomicrons. On ne saurait expliquer la disparition de ces derniers par une diffusion dans les tissus ; par ailleurs, une partie seulement des chylomicrons se trouve retenue au niveau hépatique. Il faut donc penser qu'il existe dans le sang un facteur clarifiant spontané [147]. On peut également provoquer l'apparition du facteur clarifiant endogène en injectant une émulsion lipidique [338, 128].

Ce facteur est-il identique à celui qui apparaît à la suite d'une injection d'héparine ou bien, au contraire, est-il différent ?

Certains faits plaident en faveur d'une similitude : la clarification spontanée de la lactescence post-prandiale suit, dans ses aspects physiques (électrophorétique et néphélométrique), les mêmes règles que la clarification post-héparinique ; on observe par ailleurs une lipolyse dans les deux cas.

Au cours d'une longue série de recherches [136, 139 à 143], Engelberg a pu mettre en évidence, aussi bien chez

l'Homme que chez l'animal, une activité lipolytique du plasma, vérifiable *in vitro*, après administration de corps gras ; il a comparé à ce sujet le comportement de divers triglycérides, en particulier en ce qui concerne les acides gras constitutifs, mais il n'a mis en évidence aucune différence notable. Le facteur endogène spontané se trouve inhibé, tout comme le facteur clarifiant, par le sulfate de protamine [134, 135].

Il semblerait donc s'agir d'une même substance ; d'ailleurs, Freeman & coll. [163] ont pu mettre en évidence une héparinémie spontanée dont le taux sanguin est dans une certaine mesure inversement proportionnel à celui des lipoprotéines.

Malgré cette série de faits, il ne convient pas de se montrer trop absolu, car des expériences ont mis en évidence certaines différences. Signalons en particulier que l'héparine ajoutée *in vitro* au plasma se montre sans effet sur le facteur spontané dans son action sur les tweens ou sur le butyrate d'éthyle, alors qu'elle inhibe la même activité dans le plasma post-hépariné [371].

Le problème est certes extrêmement complexe et l'on est même parvenu (Engelberg [138]) à isoler du plasma deux facteurs spontanés, l'un identique à la lipoprotéine-lipase et inhibé par l'adjonction de bile, l'autre présent seulement chez quelques sujets et stimulé, au contraire, par la bile.

Malgré les quelques différences précitées, il semble que le facteur clarifiant endogène est, sinon identique, tout au moins très voisin du facteur post-héparinique.

Le facteur clarifiant, après avoir manifesté son action, disparaît assez rapidement du courant sanguin [448]. Le foie jouerait dans cette disparition un rôle important : la concentration en lipoprotéine-lipase est élevée dans les vaisseaux amenant le sang au foie et pratiquement nulle dans les veines sus-hépatiques (Connor & Eckstein [107]) ; l'altération de la fonction hépatique, soit par hépatectomie ou simplement par intoxication à l'aide du tétrachlorure de carbone, amène une réponse plus intense à l'injection d'héparine [335, 109]. Le foie ne serait pas le seul organe destructeur du facteur et le rein interviendrait aussi, car, après néphrectomie, la réponse à l'héparine devient nettement plus intense [109].

III. — ACTIVITÉ DU FACTEUR CLARIFIANT

Le phénomène de clarification se trouve lié à la disparition graduelle des particules lipidiques insolubles, qui se solubilisent : la clarification apparaît donc comme un phénomène physico-chimique correspondant à la disparition des chylomicrons. Mais ces modifications physico-chimiques se doublent, nous l'avons vu, de modifications enzymatiques qu'il convient également d'envisager. Enfin, la clarification ne peut être efficace qu'en présence d'un « récepteur » d'acides gras.

1° *Modifications physico-chimiques.*

Lorsque l'on examine un plasma lactescent en cours de clarification à l'ultramicroscopie, on observe une diminution graduelle du nombre et de la taille des particules responsables de la turbidité : les chylomicrons les plus volumineux disparaissent les premiers, les autres beaucoup plus lentement (French & Morris [164]).

A l'ultracentrifugation, on observe une diminution du taux des lipoprotéines des classes de Sf 20 à 100 et une augmentation des lipoprotéines de Sf 10 à 20, puis, dans un second temps, de Sf 10 à 12.

Cette transformation de lipoprotéines de Sf élevés en Sf bas a été vérifiée au cours d'expériences variées *in vivo* et *in vitro* [72] : l'injection intraveineuse de lipoprotéines de Sf élevés à des lapins « héparinés » conduit à l'apparition de nouvelles lipoprotéines de Sf plus faibles [307] ; l'incubation d'un plasma hépariné avec des lipoprotéines d'une classe déterminée, même parfaitement solubles, provoque l'apparition de fractions à Sf bas aux dépens de celles présentant des Sf élevés [447].

Il se produit donc, au cours de la clarification, une transformation des chylomicrons en lipoprotéines de moindre taille et de densité plus forte.

Il ne paraît pas, au vu des expériences effectuées, que la transformation produite conduise à une classe de lipoprotéines étroitement préférentielle. Mais l'échelle des variations paraît assez vaste et correspond bien au fait que les lipoprotéines, considérées sous l'angle de leur Sf, ne représentent pas des molécules chimiquement définies, mais beaucoup plus des entités en variation continue.

Par ailleurs, l'étude électrophorétique montre au cours de la clarification une disparition graduelle des chylomicrons et, parallèlement, une nette augmentation des β- et des α-lipoprotéines [298, 193] ; de plus, elle met en évidence une augmentation des lipides situés sur les globulines α, et même sur les albumines, aux dépens de ceux préalablement situés sur les globulines β [245, 246].

Lindgren & coll. [253] voient dans la clarification un phénomène continu de transformation des chylomicrons en lipoprotéines denses dont la copule lipidique diminue rapidement. Cette perte de « matériel » peu dense rend compte, pour ces auteurs, de la diminution de taille des particules, telle que la met d'ailleurs en évidence l'ultracentrifugation. Les nouvelles « couches » de lipoprotéines de Sf plus faibles qui apparaissent ne seraient alors que des chylomicrons « allégés » dans lesquels le rapport lipides/protides s'est abaissé.

Cette hypothèse est également confirmée par l'observation des modifications électrophorétiques : la migration des lipoprotéines est, en effet, liée à la charge de la copule protidique, mais la vitesse est fonction du poids des lipides qui la freinent ; si cette masse diminue, la vitesse se trouve accrue [37].

2° *Modifications enzymatiques.*

Un certain nombre de modifications chimiques apparaissent au cours du phénomène de clarification d'un plasma lactescent, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* [98]. Il convient de mentionner principalement l'apparition d'acides gras libres et de glycérol, concomitante à la diminution du taux des glycérides [302, 296]. Ces constatations servent d'ailleurs de base à la détermination de l'activité du facteur clarifiant.

Une hydrolyse totale des triglycérides s'effectue donc parallèlement au phénomène de clarification. Le fait que certaines huiles naturelles ne sont hydrolysables qu'en présence de certaines lipoprotéines explique le terme de *lipoprotéine-lipase* par lequel peut encore être désigné le facteur clarifiant [220].

De nombreuses études ont été réalisées sur le mode d'action de cette lipase et en particulier sur ses substrats. Les triglycérides semblent, malgré certaines réserves [80], plus facilement hydrolysables que les di- et les monoglycérides [97] ; les trois liaisons « ester » d'un triglycéride

paraissent également attaquables (Korn [223]) ; cependant, un diglycéride α-α' n'est pas hydrolysé à la même vitesse qu'un diglycéride α-β (Shore & coll. [367]) ; les glycérides à base d'acides gras éthéniques sont plus facilement hydrolysés que ceux à base d'acides gras saturés [363, 145] ; cette dernière constatation explique d'ailleurs la raison pour laquelle les graisses végétales sont plus sensibles au facteur clarifiant que les graisses animales. Enfin, la lipoprotéine-lipase serait capable de scinder les esters du cholestérol [203, 204]. Shore [365] estime que l'héparine induit la formation de plusieurs enzymes d'action lipolytique spécifique sur tel ou tel type d'ester. Day & coll. [119] ont montré que la diminution du taux des lipides provoquée par injection d'héparine est proportionnelle à la lipémie existant avant l'injection ; cet effet est particulièrement net en ce qui concerne les taux d'acides gras et de phospholipides.

Korn [221] avait noté qu'une émulsion artificielle d'huile dans l'eau ou une suspension de chylomicrons isolés du canal thoracique résistait à l'action du facteur clarifiant. Il n'en était plus de même lorsque le milieu renfermait du sérum ou des α-lipoprotéines. Il avait conclu que la réaction nécessitait la présence d'un « co-facteur protéidique ». De même, un excès d'acides gras dans un système clarifiant ralentit la clarification [177] par insuffisance de co-facteur.

On avait constaté par ailleurs que l'hydrolyse des triglycérides, sous l'influence du facteur clarifiant, n'évoluait pas parallèlement à la clarification du milieu et même qu'elle pouvait s'effectuer dans certaines conditions sans qu'apparaisse la clarification. Pour être clarifiante, l'hydrolyse des liaisons esters doit se faire en présence d'un accepteur des acides gras libérés [220, 358]. On s'explique alors les observations précitées de Korn.

Le récepteur naturel d'acides gras semble être l'albumine ; celle-ci est douée, en effet, d'une grande affinité pour les acides gras avec lesquels elle forme un complexe hydrosoluble à raison de six molécules d'acides gras par molécule d'albumine [330]. Ceci n'est d'ailleurs pas surprenant, puisque Pollak [313] avait déjà montré que l'albumine stabilise les solutions de cholestérol. L'adjonction à un plasma hépariné d'huile renfermant des triglycérides à base d'acides gras marqués montre que les acides gras se fixent effectivement sur la fraction albumine [235, 261].

Gordon [176] estime que les β-lipoprotéines joueraient aussi comme accepteur un rôle essentiel ; en fixant des acides gras, elles acquerraient une mobilité comparable à celle des α-lipoprotéines ; on observe également ce phénomène lorsque l'on étudie à l'électrophorèse la clarification du sérum ; il a d'ailleurs été prouvé que l'addition *in vitro* d'oléate de sodium à un sérum augmente la migration de ses fractions [235, 289].

La lipolyse et la clarification constituent-elles deux aspects différents d'un même phénomène ou bien représentent-elles deux phénomènes différents ?

La plupart des recherches effectuées dans ce domaine prouvent que nous avons affaire à deux phénomènes consécutifs liés l'un à l'autre [185], mais cependant différents.

Dès 1956, Le Breton & coll. [236], puis Frayssinet & May [159] avaient déjà noté que la libération des acides gras ne s'effectuait pas parallèlement au phénomène de clarification. Par ailleurs, Mendelsohn & coll. [281] ont attiré l'attention sur l'absence de corrélation entre la modification de la mobilité électrophorétique des lipoprotéines (consécutive à la lipolyse) et le degré de clarification : ils signalent en particulier des cas de malades atteints d'hyperlipémie essentielle qui, sous l'influence du facteur clarifiant, présentent dans leur plasma les mêmes modifications électrophorétiques qu'un individu normal et cependant un degré de clarification absolument minime. Ils notent également que l'injection intraveineuse d'héparine amène la libération d'acides gras libres, aussi bien chez les sujets normaux que chez les hyperlipémiques, mais aucune clarification plasmatique chez ces derniers. Des constatations du même ordre ont été faites avec des coronariens [192].

Tous ces faits prouvent que la lipolyse et la clarification sont physiologiquement concomitantes, mais peuvent être dissociées l'une de l'autre et ne présentent pas, comme on l'avait cru au début, les deux aspects d'un même phénomène.

La plupart des recherches réalisées sur le phénomène de clarification n'ont envisagé que le cas des triglycérides ; il est vrai que, dans les chylomicrons, ils représentent les substances lipidiques de loin les plus abondantes. Les chylomicrons contiennent aussi du cholestérol ; cet alcool n'étant pas hydrolysable et étant insoluble dans l'eau, comment n'empêche-t-il pas la clarification ? Le cholestérol se fixe

également sur les protéines et se trouve ainsi « solubilisé ». Selon Robinson & coll. [167, 334], la fixation du cholestérol exige l'action préalable de la lipoprotéine-lipase et la fixation d'acides gras sur l'albumine. Cette conception n'est pas admise par tous ; si, en effet, le cholestérol se trouve en phase suffisamment dispersée, il peut s'intégrer dans une association lipido-protéidique sans l'action préalable de la lipase (Aubertin [44], Tayeau, Jensen, Aubertin [24]). Seul le cholestérol libre peut s'intégrer ainsi. Il est intéressant de rapprocher cette constatation des travaux de Gould [180] et de Chevallier [103], qui ont prouvé que les échanges entre le cholestérol des chylomicrons et celui des lipoprotéines ou des hématies ne concernaient que le cholestérol libre.

La clarification ne constitue donc pas essentiellement un phénomène enzymatique ; elle représente également un phénomène physico-chimique.

On peut rapprocher de cette conclusion les expériences effectuées jadis par Lœper, Lemaire & Lesure [256] sur le pouvoir cholestérolytique et qui, dans certaines circonstances, faisaient « absorber » du cholestérol par les lipoprotéines plasmatiques. Ces auteurs avaient ainsi étudié, les premiers peut-être, le phénomène de la clarification ! Plus tard, Tayeau & Nivet [415] avaient mis en évidence l'effet favorable exercé par les protéines et en particulier les protéines délipidées sur la clarification d'une émulsion ; ils avaient ainsi mis en évidence le rôle du récepteur.

Il faut aussi relier à ces résultats les expériences de Le Breton & Pantaléon [237, 238], mettant en évidence l'hydrolyse des phospholipides au cours de l'incubation du plasma (trois jours à 37° C) et la formation, avec une partie des acides gras libérés et du cholestérol, de stérides.

Cette réaction se montre, à bien des points de vue, voisine du phénomène de clarification : mêmes modifications électrophorétiques, mêmes inhibiteurs, mêmes destinées physiologiques des acides gras (Tayeau & Nivet [415]) et il est fort probable que le phénomène de clarification est beaucoup plus large qu'on ne le pense et que divers enzymes doivent intervenir.

IV. — ACTIVATEURS ET INHIBITEURS DU FACTEUR CLARIFIANT

Comme tout enzyme, le facteur clarifiant est activé par certaines substances et inhibé par d'autres.

Les activateurs sont généralement des substances qui, administrées à l'animal avant l'injection d'héparine, amènent une réponse plus intense dans la libération du facteur clarifiant. Parmi les activateurs, signalons l'extrait de Shellac (*Larraca mexica*) [288], certains dérivés du polyéthylèneglycol [422], le phosphate de pyridoxal [445], l'acide nicotinique [41] et, avec certaines réserves [75], les glucides [32, 33].

Le sulfate de protamine, qui constitue, nous le verrons plus loin, un inhibiteur du facteur clarifiant, peut, dans certaines conditions et même en l'absence d'héparine, favoriser l'apparition de la lipoprotéine-lipase [170, 292]. Il peut encore, dans certains cas, renforcer l'action de l'héparine, mais il convient alors d'attendre un certain temps entre l'injection du produit et le prélèvement de sang [170].

L'insuline et les extraits pancréatiques jouent sans doute également un rôle dans le phénomène de clarification : Meng & coll. [282, 283] ont, en effet, noté que l'animal dépancréaté ou traité par l'alloxanne réagit beaucoup moins bien que l'animal normal à l'injection d'héparine. La réponse à l'héparine reprend son aspect normal après injection d'insuline ou d'extrait pancréatique.

Beaucoup de travaux ont été publiés sur les inhibiteurs du facteur clarifiant. Il convient cependant de distinguer les inhibiteurs de l'héparine, souvent actifs *in vitro* comme *in vivo* et que nous désignerons par les termes d'*inhibiteurs directs,* et ceux dont le mode d'action reste indéterminé et que nous appellerons *inhibiteurs indirects.*

L'un des inhibiteurs directs les plus étudiés est sans doute le sulfate de protamine [73, 140, 285]. C'est en raison de son pouvoir antagoniste vis-à-vis des propriétés anticoagulantes de l'héparine que le sulfate de protamine a été étudié. Cette substance agit également comme antagoniste de l'héparine dans le phénomène de clarification, mais cette action ne se manifeste que dans des conditions bien déterminées ; comme nous l'avons vu précédemment, le sulfate de protamine peut même agir dans certains cas comme l'héparine [292, 434].

Le sulfate de protamine ne manifeste ses propriétés antagonistes vis-à-vis de l'action clarifiante provoquée par l'héparine que s'il a été injecté après cette dernière ; si, au contraire, il a été injecté avant l'héparine, l'effet antagoniste n'apparaît plus. Bien plus, l'effet antihéparine du sulfate de protamine ne se manifeste dans le plasma que pendant un certain temps ; après quatre minutes environ, l'effet inhibiteur ne peut plus être mis en évidence [286] ; ces faits laissent supposer que le sulfate de protamine se fixe rapidement sur les tissus et n'exerce plus ainsi son action antagoniste [286].

Des études électrophorétiques et polarographiques ont montré que le sulfate de protamine stoppait les transformations plasmatiques normalement produites par l'injection d'héparine [153]. Le sulfate de protamine manifeste également son action *in vitro* [140].

Enfin, l'estérase responsable de la clarification spontanée n'est pas inhibée par le sulfate de protamine, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* [369].

Plusieurs hypothèses ont été émises sur le mécanisme d'action du sulfate de protamine : selon Anfinsen [36], cette substance intervient tout simplement en neutralisant l'héparine grâce à une réaction de type électrovalentiel ; pour Laudat & de Gennes [233], le sulfate de protamine interviendrait en formant un complexe avec les acides gras, ce qui augmenterait l'opacification. Pour Seifter & Baeder [360], il s'agirait d'une action purement physiologique intéressant les surrénales et l'hypophyse. Pour Spitzer [377] enfin, le sulfate de protamine se fixerait sur les particules de graisse, empêchant ainsi l'action enzymatique.

Beaucoup d'autres substances présentent un effet inhibiteur vis-à-vis de la clarification : mentionnons en particulier les sels biliaires [38, 15]. Ceci explique d'ailleurs le pouvoir clarifiant plasmatique réduit des individus cholalémiques traités par l'héparine (cas des ictères rétentionnels récents [47]). Ce pouvoir des sels biliaires peut s'expliquer par le rôle qu'exercent ces substances sur la stabilité des associations lipido-protéidiques [396] ; on conçoit, en effet, que les sels biliaires puissent amener une perturbation dans la fixation des acides gras sur les protéines réceptrices.

Signalons encore les sels minéraux et en particulier le chlorure de sodium [128, 140, 74] à une concentration supérieure à 0,2 M [80], le chlorure de calcium [294] et en général

les sels de cations bivalents [224] ; l'action des sels peut également s'expliquer par leur effet sur la stabilité des associations lipido-protéidiques.

Il existe encore de très nombreuses substances qui sembleraient manifester un effet antagoniste vis-à-vis de l'héparine, mais aucune preuve n'a pu être apportée sur ce mode d'action.

La plupart des inhibiteurs indirects agissent en provoquant la libération de substances tissulaires encore indéterminées et constituant les réels inhibiteurs. Certaines de ces substances s'opposent à la production de facteur clarifiant. C'est le cas, par exemple, de l'acétate d'uranyle [118] qui, inactif *in vitro,* se montre capable *in vivo* d'empêcher la libération du facteur clarifiant par une injection d'héparine ; par ailleurs, injecté à l'animal plus de trente minutes avant l'injection d'héparine, le pouvoir inhibiteur disparaît ; on peut penser alors que le produit inconnu libéré des tissus a eu le temps de s'éliminer de la circulation.

L'élastase pancréatique, injectée par voie parentérale, provoque, elle aussi, l'inhibition du facteur clarifiant, en même temps qu'augmente la coagulabilité du sang. Il est intéressant de rapprocher cette constatation du rôle que certains auteurs font jouer à cet enzyme dans la pathogénie du syndrome athéroscléreux au cours duquel apparaissent des troubles intéressant les lipoprotéines.

Signalons également que le régime hypercholestérolémique prolongé rend le Lapin à peu près insensible à l'injection d'héparine [203] ; le plasma des animaux, atteints d'hyperlipémie expérimentale, se montre réfractaire à la clarification.

Il convient de mentionner enfin que divers individus et certains animaux possèdent spontanément dans leur plasma un facteur inhibiteur de l'action de l'héparine [173, 26]. Bien plus, ce facteur empêche la clarification du plasma *in vitro.* Hollett & Meng [195] ont isolé ce facteur : il s'agirait d'un glucoprotéide stable à 100° C, résistant à l'action de la pepsine, soluble dans les solutions alcalines et inactivé par hydrolyse acide.

Ce facteur réfractaire a été retrouvé dans le sérum des athéromateux [40, 308] et chez certains lipémiques [152]. Ce facteur présente peut-être une certaine parenté avec les glucoprotéides qui apparaissent dans la circulation chaque

fois qu'un animal ou même un homme se trouve soumis à une agression ; on expliquerait peut-être ainsi la résistance à la clarification des plasmas d'animaux rendus hyperlipémiques par saignées répétées et aussi des plasmas d'animaux soumis à des agressions [357] ; on sait que, dans ces deux cas, les plasmas se montrent très riches en glucoprotéides [93, 401] ; on s'explique également l'effet inhibiteur du cortisol et de la corticotropine, qui interviennent dans le mécanisme d'apparition de certaines glucoprotéines. C'est là un point qui fera l'objet d'un des chapitres de nos recherches personnelles.

Nous connaissons maintenant la nature, les propriétés, les effecteurs du facteur clarifiant. Nous savons également qu'il existe un facteur naturel endogène, analogue à la lipoprotéine-lipase post-héparine et probablement doué d'un rôle physiologique dans le métabolisme des graisses [331, 21]. Le point d'impact de cet enzyme est loin d'avoir été élucidé ; certaines recherches, cependant, ouvrent des horizons pleins d'intérêt.

Après un repas gras, les acides gras des triglycérides absorbés disparaissent très rapidement de la circulation sanguine [191, 165] pour aller vers le foie, le tissu adipeux et divers tissus les utilisant comme source d'énergie [290]. Les chylomicrons étant incapables de franchir la « barrière » tissulaire, ce sont les acides gras qui constituent la forme de passage entre les graisses alimentaires et celles constituant les réserves ou destinées au catabolisme.

Pour Robinson [20], c'est le long des cellules endothéliales des petits vaisseaux que se ferait l'association entre les chylomicrons et la lipoprotéine-lipase tissulaire, par l'intermédiaire de l'héparine endothéliale. Cette association s'avère indispensable à l'hydrolyse des triglycérides et les acides gras ainsi libérés, fixés sur la sérum-albumine, franchiraient alors la membrane vasculaire et pénétreraient dans les cellules pour y subir soit une incorporation dans les graisses de réserve, soit l'oxydation.

Dans certains cas, l'association, fixée sur l'endothélium, pourrait « glisser » dans la circulation générale, ce qui expliquerait les faibles quantités de lipoprotéine-lipase trouvées spontanément dans le sang veineux de certains organes [206, 133, 329].

On ne sait pas encore si l'hydrolyse produite ainsi dans

les capillaires des tissus est complète ou non. Bien que les travaux de Korn semblent prouver que les trois acides gras des triglycérides soient scindés, il n'est pas impossible qu'une hydrolyse incomplète conduise à des monoglycérides dont le pouvoir émulsifiant bien connu permette une meilleure dispersion des triglycérides restants ; ceux-ci pourraient alors franchir la membrane des capillaires par pinocytose. Cette hypothèse permettrait d'expliquer les résultats de Rodbell [341], selon lesquels les triglycérides pourraient pénétrer dans les tissus sans hydrolyse préalable.

Le facteur clarifiant naturel agirait donc « à la frontière » des tissus et du sang circulant ; on conçoit ainsi que l'on ne puisse en mettre en évidence dans le sang que de minimes quantités ; certains avaient d'ailleurs pensé qu'il existait dans le sang sous une forme masquée.

La lipoprotéine-lipase semble donc constituer l'enzyme régulateur de l'entrée des acides gras dans les cellules.

De nombreuses affections étant caractérisées par des troubles du métabolisme des graisses, il était tout naturel que le rôle du facteur clarifiant fût envisagé dans ces maladies.

Ainsi, dans l'hyperlipémie essentielle, le plasma à jeun est lactescent et la lactescence est très peu sensible à l'injection d'héparine. Ce manque d'effet de l'héparine a suscité de nombreuses recherches et plusieurs hypothèses ont été émises : composition différente des chylomicrons [97], carence en lipoprotéine-lipase [188], présence d'un inhibiteur [244, 215]. De nombreux travaux ont été effectués chez des malades atteints d'hyperlipémie essentielle [281, 214, 442], mais les résultats obtenus ne sont pas toujours en accord les uns avec les autres.

L'injection d'héparine se montre également inefficace dans certaines hyperlipémies secondaires ; peut-être cette constatation est-elle liée à une augmentation du facteur inhibiteur ? L'existence de ce facteur a été envisagée dans le cas de sérums de malades atteints de cirrhose [113], de pancréatites [205, 213], de néphrose [359, 26], chez lesquels, malgré la mise en évidence de la lipoprotéine-lipase [95], on observe un défaut de clarification. La maladie athéromateuse, généralement caractérisée par la présence dans le sang de lipoprotéines anormales, mérite également l'attention [46]. Ces lipoprotéines anormales injectées à un

individu normal disparaissent rapidement de la circulation. Il n'en est pas de même chez l'athéromateux. On a pensé que ces derniers pouvaient être déficients en facteur clarifiant [62] et la thérapeutique par l'héparine a été préconisée chez ces malades [229, 355]. Les résultats se montrent contradictoires [2, 374] ; peut-être la présence éventuelle de l'inhibiteur [120] explique-t-elle les cas d'échecs (voir plus loin) .

CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

Nous pouvons reconnaître les progrès considérables accomplis ces dernières années dans l'étude des lipoprotéines plasmatiques et de leur comportement physiopathologique. Nos connaissances sur la structure de ces molécules sont devenues plus précises et plus complètes. Le rôle de la lipoprotéine-lipase dans leur destinée physiologique a été mis en évidence et ce « facteur clarifiant » a fait l'objet d'un nombre considérable de travaux ; la nature de cet enzyme est maintenant connue ; des précisions ont été apportées sur la constitution des substrats et de nombreux effecteurs ont été décrits. Cependant, le facteur clarifiant est loin de nous avoir livré tous ses secrets.

Actuellement, on a tendance à relier l'apparition de certaines hyperlipémies à une diminution de l'activité clarifiante. Nous nous sommes attaché tout particulièrement à l'étude de l'hyperlipémie expérimentale provoquée chez l'animal par saignées répétées en pensant que les résultats obtenus pourraient être utilisés en clinique.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

INTRODUCTION

On sait depuis longtemps (Mauriac, 1912 [275]) que, si l'on soumet des lapins à des saignées abondantes et fréquentes, ces animaux présentent après quelques jours une hyperlipémie, tandis que leur sérum prend un aspect lactescent.

Nous avons vu dans la première partie que le sérum contient normalement plusieurs grammes de substances lipidiques par litre. Ces lipides se trouvent constitués par des glycérides, des phospholipides, des stérides et des stérols, associés à des protéines sous forme d'associations de petite taille et hydrosolubles, ce qui explique l'aspect limpide du sérum.

Lorsque le taux des lipides augmente dans des conditions pathologiques ou expérimentales, certains sérums restent limpides, tandis que d'autres présentent une lactescence plus ou moins marquée. Cette lactescence serait due à une augmentation de la taille des particules.

Les particules possédant un diamètre inférieur au quart de la longueur d'onde de la lumière visible, environ 0,1 μ, sont invisibles à l'œil nu, et le sérum qui les contient reste clair, tandis que des particules plus grosses, en interrompant les rayons lumineux, donnent au sérum un aspect trouble.

On pouvait penser en effet que la lactescence était proportionnelle au taux des lipides. Or, on sait que certains sérums clairs sont aussi riches en lipides que d'autres sérums présentant une lactescence marquée.

Les différentes catégories de lipides ne jouent peut-être pas un rôle équivalent dans l'apparition de ce phénomène, et une étude non seulement quantitative, mais aussi qualitative de ces lipides, pourrait permettre d'expliquer ce fait.

Déjà, en 1937, Boyd [71] observe une relation entre la diminution du taux des phospholipides et l'apparition de la lactescence. Nagler [293], en 1939, découvre que la toxine de *Clostridium welchii* produit une opalescence du

sérum, mais, un peu plus tard (en 1941), Mac Farlane & Knight [262] démontrent que la réaction de Nagler est due en réalité à l'hydrolyse enzymatique des phospholipides et que la toxine renferme en fait une lécithinase. La cinétique de cette réaction enzymatique a été étudiée avec un sérum humain [111], ainsi que la dégradation de la lipoprotéine sérique par cette lécithinase [306]. A la suite de ces expériences, Elkes & Frazer [130] émettent l'hypothèse que les phospholipides stabilisent les gouttelettes de graisse dans le sérum. Ahrens & Kunkel [31, 227], étudiant la stabilité des lipides du sérum, ont montré que la coalescence des gouttelettes apparaissait après hydrolyse des phospholipides par la lécithinase et que la turbidité résultante était proportionnelle à la teneur en lipides totaux. De plus, il existe une relation entre la diminution des phospholipides et l'apparition de la lactescence [324, 30]. Ces résultats confirment l'hypothèse de Mac Farlane & Knight [262], à savoir que les phospholipides agissent comme des substances stabilisatrices des émulsions lipido-protéidiques.

Quelques années plus tard, Adlersberg [28], étudiant l'hyperlipémie familiale essentielle (sérum lactescent) et l'hypercholestérolémie idiopathique (sérum clair), pense que la lactescence est due à une augmentation des graisses neutres. Il aboutit aux mêmes conclusions en comparant les lipides dans la néphrose lipoïdique (sérum lactescent) et dans le syndrome de Kimmelstiel-Wilson (sérum clair) [29]. Rosenman & Smith [345,] suivant l'apparition d'une néphrose expérimentale par injection de sérum anti-rein à des rats, constatent une augmentation de la lipémie qui concerne surtout les triglycérides et, à un taux nettement inférieur, le cholestérol et les phospholipides.

La lactescence du sérum au cours du coma diabétique acidosique [208, 59] se rapproche de celle que l'on observe dans la néphrose lipoïdique ou encore dans l'hyperlipémie familiale. Azerad & coll. [45] ont souligné que la baisse de l'albumine observée dans les comas diabétiques est d'autant plus sensible que les sérums sont plus lactescents. Par ailleurs, ils constatent que le rapport cholestérol/phosphore lipidique est abaissé, l'augmentation du cholestérol étant moins accentuée que celle des phospholipides. Au contraire, au cours du traitement, on assiste à une chute du cholestérol et surtout du phosphore lipidique, ramenant le rapport précédent vers la normale.

On peut rapprocher ces faits de l'hyperlipémie avec sérum lactescent apparaissant chez les lapins soumis à des saignées répétées.

En examinant ces différentes hypothèses, on se trouve amené à penser que la lactescence observée dans les sérums hyperlipémiques peut avoir des causes diverses : hypoprotéinémie, hypophosphatidémie, variation du rapport cholestérol/phosphore lipidique, augmentation des graisses neutres, etc., plusieurs causes pouvant d'ailleurs se trouver diversement associées.

Les recherches expérimentales qui suivent ont notamment pour but d'apporter une contribution à l'étude du mécanisme d'apparition de la lactescence dans un sérum hyperlipémique.

CHAPITRE PREMIER

L'HYPERLIPÉMIE PAR SAIGNÉES RÉPÉTÉES

Il existe plusieurs procédés permettant de provoquer chez l'animal un syndrome hyperlipémique (administration d'huiles, de cholestérol, etc.).

Etant particulièrement intéressé par le syndrome néphrotique qui, en plus de l'hyperlipémie, s'accompagne toujours d'une hypoprotéinémie, nous avons choisi la technique des saignées répétées [275], qui provoque, chez le Lapin en particulier, un état voisin de celui auquel nous nous étions primitivement attaché.

Notre technique consiste à introduire l'oreille du lapin, dont la veine marginale a été incisée à l'aide d'un vaccinostyle ou d'une lame de rasoir, dans un erlenmeyer de 250 millilitres présentant une tubulure à la base inférieure. On fixe sur cette tubulure, par l'intermédiaire d'un bouchon percé de deux trous, un tube à centrifuger gradué (en plastique) destiné à recueillir le sang. Le second trou du bouchon permet de relier l'ensemble à une trompe à vide. Le vide favorise un écoulement rapide du sang.

Nous avons donc étudié des sérums de lapins rendus hyperlipémiques par des saignées répétées. Les animaux, auxquels nous avons prélevé quotidiennement environ 30 millilitres de sang, présentaient après quelques jours une hyperlipémie importante, accompagnée de la lactescence du sérum.

I. — VARIATIONS DES FRACTIONS LIPIDIQUES

Beaucoup d'auteurs ont étudié les variations de l'augmentation des diverses substances lipidiques au cours de certaines hypoprotéinémies. Cette augmentation variant dans de larges limites suivant la technique utilisée, nous avons estimé opportun, dans ce premier paragraphe, d'étudier en détail les modifications observées dans le cas de la technique que nous avons choisie.

Sur chacun de ces prélèvements, nous avons effectué le dosage des protéines (Gornall [179]), des lipides totaux (Delsal [121]), du cholestérol (fondé sur la réaction de Liebermann [250, 251]) et du phosphore lipidique (Machebœuf & Delsal [266]), ainsi que les lipoprotéinogrammes [1].

Les résultats de ces analyses (tabl. I), portant sur une dizaine d'animaux, montrent :

TABLEAU I

Variations du taux des protéines, lipides totaux, cholestérol, phospholipides et lipides neutres du sérum de lapins soumis a des saignées répétées.

Saignées	Protéines (g/l)	Lipides totaux (g/l)	Cholestérol (g/l)	Phospholipides (g/l) (1)	Lipides neutres (g/l) (2)
N° 1	66	4,25	0,63	0,75	2,55
N° 2	66	8,50	0,85	1,55	5,70
N° 3	65	12,30	1,20	2,20	8,25
N° 4*	53	22,45	1,65	3,25	17,0
N° 5*	45	29,60	2,0	4,25	22,80

(*) Sérum lactescent.
(1) Phospholipides : phosphore lipidique × 25.
(2) Lipides neutres : différence entre lipides totaux et phospholipides + cholestérol total + 68,5 p. 100 du cholestérol estérifié.

— Une baisse importante des protéines ;
— Une augmentation très accentuée des lipides totaux

(1) Ces résultats feront l'objet d'un mémoire ultérieur, en collaboration avec F. Tayeau, R. Nivet (†), M. Dumas et J. Grouillé.

et des lipides neutres (voir *fig.* 3), confirmée par les lipoprotéinogrammes (*fig.* 4) ;

— Une augmentation très nette également des phospholipides et du cholestérol.

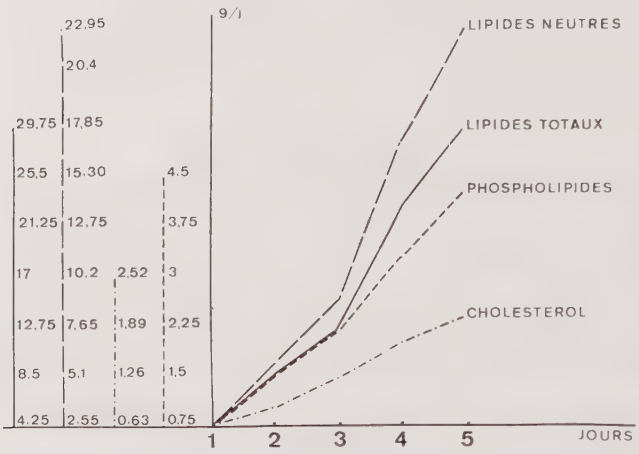

Fig. 3.

Modifications du taux des fractions lipidiques du sérum d'un lapin (n° 29) soumis à des saignées quotidiennes.

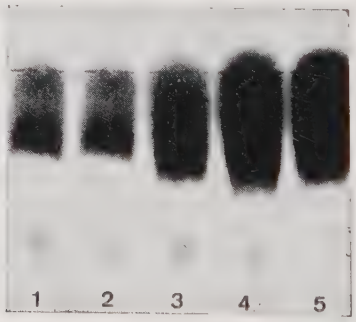

Fig. 4.

Modifications des lipoprotéinogrammes du sérum d'un lapin (n° 29) soumis à des saignées quotidiennes (cinq jours).

Si l'on représente graphiquement le taux des différentes fractions (*fig.* 5), on constate que celle qui augmente le moins est le cholestérol ; viennent ensuite les phospholipides et les lipides neutres dont l'augmentation est la plus importante.

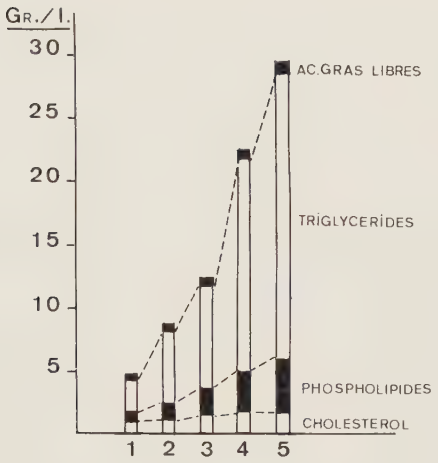

Fig. 5.

Représentation graphique du taux des différentes fractions lipidiques du sérum d'un lapin (n° 29) soumis à des saignées quotidiennes.

Pour avoir une idée plus précise des variations du pourcentage des différentes fractions, nous avons rapporté les taux de cholestérol, phospholipides et lipides neutres à celui des lipides totaux.

Les résultats ainsi obtenus sont consignés dans le tableau II, dans lequel nous avons fait figurer également le rapport protéines/lipides.

TABLEAU II

Variations des rapports entre les différentes fractions lipidiques et les lipides totaux au cours des saignées.

Saignées	Cholestérol / Lipides totaux	Phospho-lipides / Lipides totaux	Lipides neutres / Lipides totaux	Protides / Lipides totaux
N° 1	0,15	0,180	0,60	15,5
N° 2	0,10	0,176	0,67	7,75
N° 3	0,09	0,166	0,67	5,3
N° 4	0,07	0,145	0,76	2,4
N° 5	0,06	0,140	0,77	1,5

L'examen de ce tableau montre que le pourcentage des phospholipides et surtout du cholestérol diminue, alors que celui des lipides neutres augmente. Nous remarquons que les variations des pourcentages du phosphore et des lipides neutres sont surtout sensibles à partir de la quatrième saignée, au moment où apparaît la lactescence.

L'apparition de la lactescence pourrait donc être en relation avec une augmentation massive des lipides neutres (molécules hydrophobes), non compensée par l'augmentation des phospholipides (molécules polaires). Cette disproportion, associée à une baisse des protéines, fait apparaître dans le sérum des micelles lipoprotéidiques plus grosses et plus hydrophobes, responsables de la turbidité du milieu.

Nous avons réalisé un certain nombre d'expériences du même type ; nous ne pouvons pas les mentionner toutes ; nous nous contenterons de résumer quelques-unes d'entre elles, en représentant comme précédemment les modifications du taux des fractions lipidiques et des lipoprotéinogrammes (*fig.* 6 *à* 13).

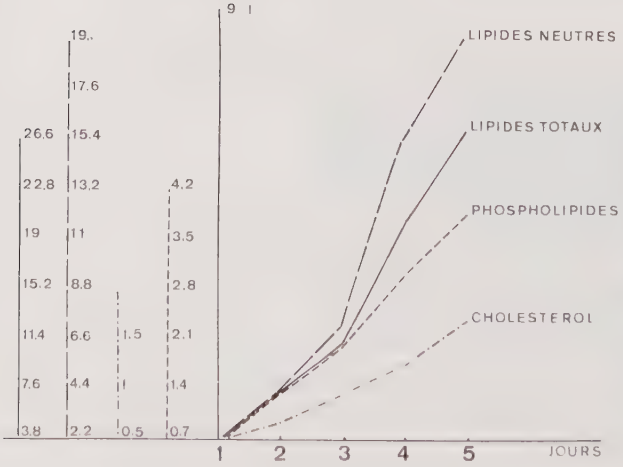

Fig. 6.

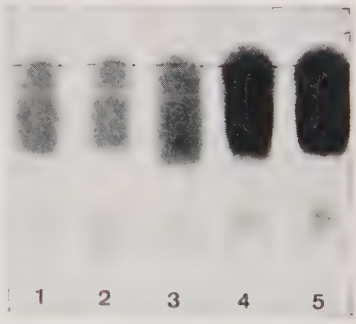

Fig. 7.

Lapin Rex.

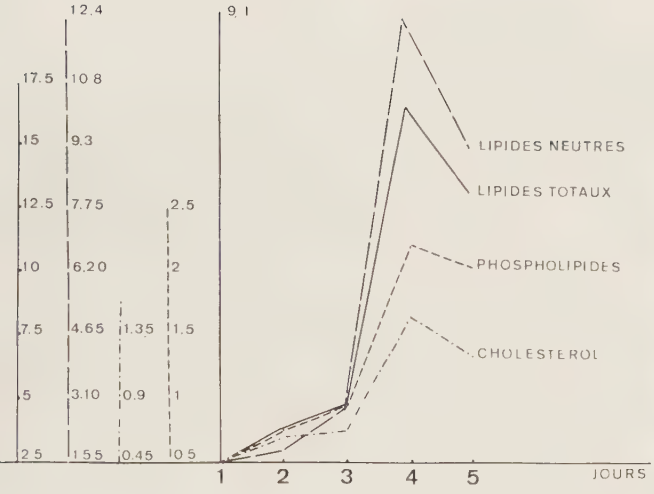

FIG. 8.

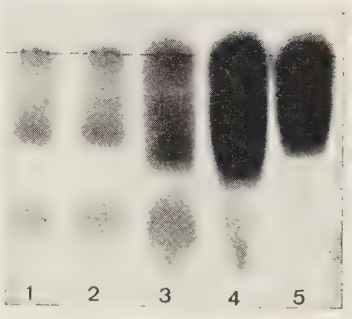

FIG. 9.

Lapin n° 26.

(La diminution de la lipémie constatée à la cinquième saignée chez cet animal s'est accompagnée d'une baisse de la mucoprotéinurie,)

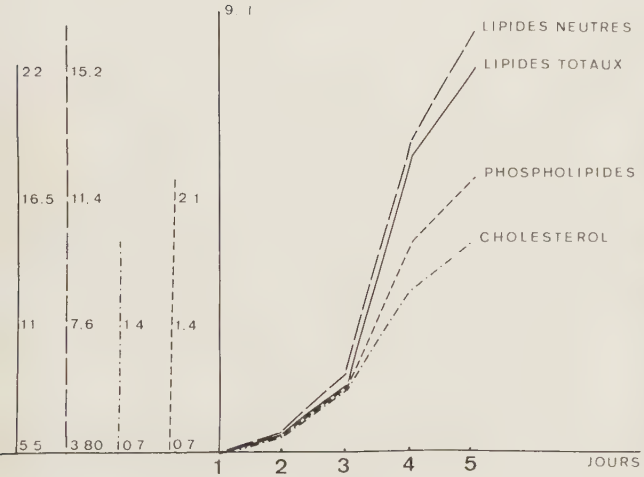

FIG. 10.

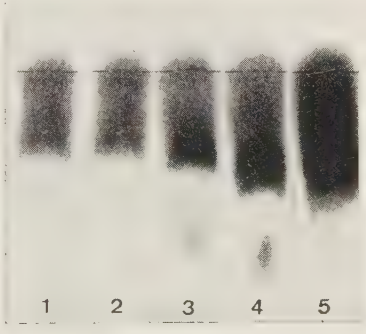

FIG. 11.

Lapin n° 30.

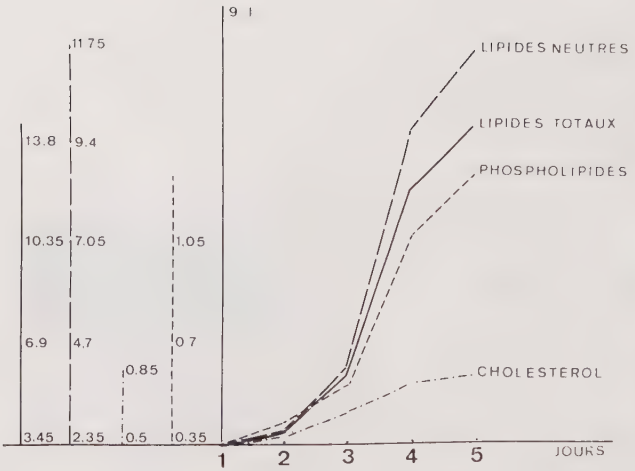

Fig. 12.

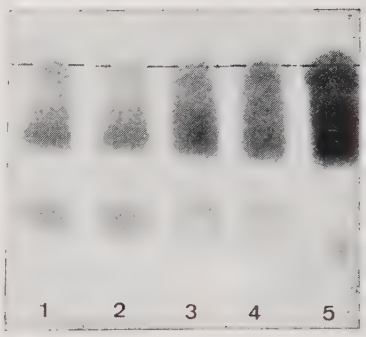

Fig. 13.

Lapin n° 32.

II. — COMPORTEMENT DES LIPOPROTÉINES DU SÉRUM HYPERLIPÉMIQUE

Il s'agit de savoir si la stabilité de ces associations lipido-protéidiques a varié au fur et à mesure des saignées. Ces modifications peuvent être mises en évidence par un certain nombre d'observations.

Tayeau, Nivet, Marquevielle & Dumas [417, 418] ont montré que le leucocyanidol précipite les lipoprotéines du sérum sanguin et que le précipité est d'autant plus abondant que l'association lipides-protides est plus stable.

Appliquant ces conclusions à l'étude des sérums de lapins rendus lactescents par saignées, nous avons constaté, par action du leucocyanidol *in vitro*, une augmentation progressive du précipité obtenu qui passe du simple au double.

Le tableau III montre, à titre d'exemple, les chiffres obtenus lors de l'une de nos expériences. Nous avons indiqué, d'une part, les variations du taux des protéines, des lipides, du cholestérol et du phosphore lipidique sous l'influence des saignées, d'autre part, la quantité de ces différentes fractions qui a précipité par addition de leucocyanidol (3,5 p. 1 000). Nous avons également fait figurer dans ce tableau le pourcentage de ces fractions ainsi précipitées.

TABLEAU III

VARIATIONS, AU COURS DES SAIGNÉES, DU TAUX ET DU POURCENTAGE DES PROTÉINES, DES LIPIDES, DU CHOLESTÉROL ET DU PHOSPHORE LIPIDIQUE PRÉCIPITÉS PAR LE LEUCOCYANIDOL.

	PROTÉINES (g)			LIPIDES (g)			CHOLESTÉROL (g)			PHOSPHORE LIPIDIQUE (mg)		
	totales	précipitées	%	totaux	précipités	%	total	précipité	%	total	précipité	%
1re saignée ..	67,9	4,02	5,9	2,70	0,11	4	0,45	0,021	4,6	20	0,4	2
3e saignée ..	56,8	4,51	7,9	4,75	0,44	9,2	0,76	0,075	9,9	39	2,9	7,4
4e saignée ..	55	5,31	9,4	10	1,05	10,5	1,10	0,089	12,3	65	5,1	7,8
5e saignée ..	50,7	6,36	12,5	13	1,65	12	1,20	0,178	14,8	81	9,2	8,3

Le pourcentage de lipides précipités à la première saignée est de 4, alors qu'il atteint 12 à la cinquième saignée. Il apparaît donc que la quantité et le pourcentage de substances lipidiques précipitées vont en augmentant, comme si les lipoprotéines nouvellement formées étaient plus vulnérables et présentaient tout au moins des associations de type différent.

D'autre part, si l'on traite un sérum humain normal par de l'éther seul, celui-ci est incapable d'en extraire les lipides. Il n'en est plus de même si la stabilité des associations lipides-protides est modifiée. C'est le cas des sérums additionnés de détergents, de savons alcalins [22], de saponosides [394, 397], de sels biliaires, etc. C'est le cas également pour le sérum des malades atteints d'ictère par rétention [395] (1). Nous avons agité les sérums de lapins hyperlipémiques et lactescents avec de l'éther et nous avons constaté que la quantité de lipides extraits augmente légèrement au fur et à mesure des saignées, mais que leur pourcentage diminue (tabl. IV) (2).

(1) Cette constatation a d'ailleurs été utilisée comme test de la stabilité des lipoprotéines au cours de certaines affections (TAYEAU, ROLLAND et BLANQUET [419], REUBI [325]).

(2) Signalons, à titre documentaire, que l'éther seul extrait toujours une petite quantité de lipides, plus abondante chez le Lapin que dans d'autres espèces.

TABLEAU IV

Pourcentage de lipides extraits par agitation avec l'éther de sérums de lapins soumis a des saignées.

Saignées	Lipides (p. 100)
Première	4
Deuxième	3
Troisième	1,7
Quatrième	1,6
Cinquième	1,5

Enfin, si l'on soumet un sérum à un séjour à l'étuve à 37° C pendant soixante-douze heures [409], le diagramme électrophorétique des lipoprotéines subit de profondes modifications : la fraction primitivement située sur la zone des β-globulines se trouve, après incubation, au niveau des α-globulines, alors que la fraction primitivement située en α migre un peu plus loin. Avec le sérum d'un lapin fréquemment saigné, la modification du lipoprotéinogramme après séjour à l'étuve à 37° C ne se produit plus (*fig.* 14). Ce phénomène a déjà été observé par Tayeau & Nivet [410].

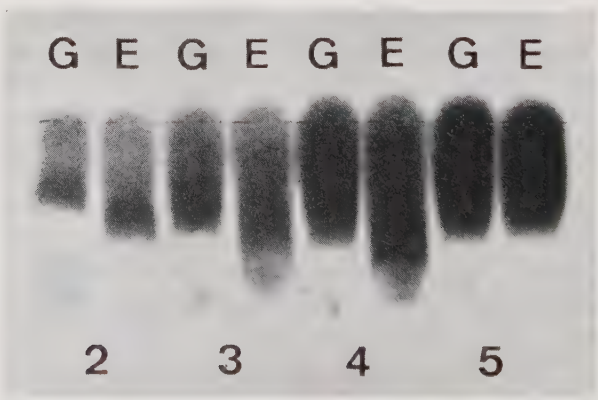

Fig. 14.

Diagrammes électrophorétiques des lipoprotéines de sérums de Lapins après saignée (cinq jours), incubés à 37° C.
G = Glacière; E = Etuve.

Ces diverses observations montrent que les lipoprotéines de sérums, rendus hyperlipémiques par saignées, présentent un comportement particulier. Est-ce le fait d'un changement dans la nature de ces molécules ou simplement une modification de la stabilité des associations lipido-protidiques ? Des perturbations analogues ont déjà été observées au cours de certaines affections s'accompagnant d'une hyperlipémie.

C'est ainsi que Tayeau [395] a constaté que, chez les malades atteints d'ictère par rétention, une partie des lipides est facilement extraite par agitation du sérum avec de l'éther ; cet auteur pense que ces lipides anormalement fixés ne peuvent être utilisés normalement par l'organisme, et cette hypothèse permettrait d'expliquer l'hyperlipémie que l'on observe chez ces malades. D'ailleurs, dans ces mêmes affections, le comportement électrophorétique des α-lipoprotéines est anormal, leur mobilité rejoignant celle des β-lipoprotéines [126].

De même, les athéromateux présentent dans leur sérum des lipoprotéines anormales, particulièrement riches en cholestérol et qui, par électrophorèse, migrent avec les β-lipoprotéines [402]. Ces lipoprotéines de caractère anormal pourraient exister à un taux très faible chez les sujets normaux et s'accumuler à cause d'un défaut de destruction ou bien se former par suite de l'altération de la capacité de liaison lipides-protides [126]. Mentionnons enfin que, chez les malades traités par le salicylate de sodium, on observe des phénomènes comparables [300, 407].

CONCLUSIONS DU CHAPITRE PREMIER

Dans l'hyperlipémie expérimentale que nous avons provoquée chez le Lapin, nous avons pu constater que l'élévation du taux des lipides n'intéressait pas également les différentes fractions. Ce sont les triglycérides qui, de loin, subissent la plus forte augmentation. Les lipoprotéines nouvellement formées sont douées de propriétés différentes de celles des lipoprotéines normales ; leur comportement électrophorétique après incubation à 37° C, de même que l'action du leucocyanidol ou de l'éther, montrent que ces nouvelles associations lipido-protidiques sont beaucoup plus stables.

Ces constatations sont à rapprocher des résultats obtenus par divers auteurs qui, par des techniques différentes provoquant l'hyperlipémie, ont obtenu des résultats également différents des nôtres. Nous croyons devoir insister sur la technique mise en œuvre pour provoquer l'hyperlipémie.

CHAPITRE II

HYPERLIPÉMIE ET FACTEUR CLARIFIANT

Nous venons de voir que, si l'on soumet des lapins à des saignées abondantes et répétées, on voit apparaître dans leur sérum des lipoprotéines dont la composition et la stabilité diffèrent de celles habituellement rencontrées. Mais l'existence de ces lipoprotéines particulières peut-elle expliquer l'hyperlipémie importante produite chez ces animaux ?

Des causes multiples ont été invoquées pour expliquer l'augmentation des lipides plasmatiques.

I. — HYPOTHÈSES DIVERSES SUR LE MÉCANISME D'APPARITION DES HYPERLIPÉMIES

Depuis longtemps, de nombreux auteurs [59, 208, 3, 406] se sont intéressés à ce problème. Mettant l'accent sur la baisse de la protéinémie qui accompagne l'hyperlipémie dans la néphrose lipoïdique, ils avaient émis l'hypothèse que l'augmentation des lipides constituait une réaction de l'organisme cherchant à maintenir normale une pression oncotique abaissée par la chute du taux des protéines sériques. Dès 1927, Fishberg & Fishberg [157] constatent que des saignées répétées chez les lapins provoquent, en même temps que l'hypoprotéinémie, une augmentation importante du taux des lipides sériques ; de plus, le sérum hyperlipémique de ces animaux exerce un pouvoir osmotique plus élevé que le sérum des animaux normaux, à la même concentration en protéines. Fishberg [156] en conclut que c'est pour pallier en partie la chute de la pression colloïdo-osmotique que l'hypoprotéinémie entraînerait une mobilisation des graisses. Macheboeuf & Sandor (1931) [268] démontrent de

même que la pression osmotique d'une « solution d'albumine » provenant d'un sérum néphrotique est plus élevée que celle d'une solution de même concentration en albumine provenant d'un sujet normal ; mais, après délipidation, la pression développée par les deux sérums est identique. Machebœuf & Wahl [271, 272] constatent par ailleurs que l'index lipo-albuminique, c'est-à-dire la quantité de lipides liée à 100 grammes d'albumine, est considérablement augmenté dans la néphrose lipoïdique. Mais ils désirent auparavant savoir, avant de conclure, si ce fait ne serait pas dû à une altération des albumines. Des travaux réalisés par Machebœuf & Januszkiewicz [267] et par Machebœuf & Tayeau [270] ont montré que les albumines des néphrosiques ne diffèrent en rien de celles des sérums d'hommes normaux. Ce résultat infirme toute théorie faisant intervenir une malformation des protéides comme agent de causalité des œdèmes néphrosiques. Corroborant les conclusions de Fishberg, Machebœuf attribue alors aux lipides sériques un rôle important dans la régulation de la pression de Starling et les échanges d'eau dans l'organisme.

Ces recherches concernant le rôle éventuel joué par les lipides ont fait l'objet de critiques, car certains auteurs (Bourdillon [66], Popjak & Mac Carthy [316, 317, 318]) ont prétendu que les lipides des associations lipido-protéidiques ne jouaient aucun rôle dans la pression oncotique du plasma, même chez les néphrotiques.

La discordance entre ces deux séries de recherches semble provenir des techniques mises en jeu. Les derniers auteurs ont effectué des mesures de pression osmotique vraie, en particulier à de très faibles concentrations en protéines ; les premiers, au contraire, ont plus souvent mesuré l'effet de dilution apparaissant au cours de la dialyse et ainsi ont été amenés à négliger le volume important occupé dans le solvant par les lipides. Cependant, les conditions dans lesquelles se sont placés les premiers auteurs se rapprochent davantage des conditions physiologiques, ce qui permet de penser que les lipides exercent réellement une action non négligeable sur la pression de Starling du plasma [265]. Par la suite, Machebœuf [264], ne trouvant pas d'hyperlipémie après plasmaphérèse chez les lapins, ne considère plus l'élévation des lipides comme un phénomène compensateur de l'hypoprotéinémie : il estime alors que les résultats des expériences de Fishberg seraient dus davantage à une dimi-

nution globulaire et plasmatique et non à la seule baisse des protéines.

D'ailleurs, en clinique, on n'observe pas de relation étroite entre le taux des protéines totales, ou celui de l'albumine ou des globulines, et le taux des lipides, au cours de l'évolution de la néphrose. De plus, il existe des affections qui s'accompagnent d'une hypoprotéinémie sévère sans élévation de la lipidémie (œdème de la famine par exemple). Aussi a-t-on considéré comme peu probable la dépendance directe de l'hyperlipémie vis-à-vis de l'hypoprotéinémie et pense-t-on plutôt que, dans la néphrose, l'hyperlipémie pourrait être due à une altération de l'activité enzymatique du rein sur la dégradation des lipides circulants, ou encore à un défaut du mécanisme normal de transfert des lipides du plasma vers le foie [344].

A l'occasion d'un travail, publié en 1958, Tayeau & Nivet [416] avaient constaté que le phénomène précédemment décrit et mis en évidence par ces auteurs (migration des β-lipoprotéines en α_2 après incubation du sérum à 37° C pendant 72 heures) diminuait d'abord d'intensité pour disparaître ensuite, au fur et à mesure des saignées et de l'établissement de l'hypoprotéinémie (*fig.* 14).

Reliant le phénomène d'incubation à ce qui se passe dans le sang circulant et ayant même émis l'hypothèse que seuls pouvaient être utilisés par les tissus les lipides ayant physiologiquement effectué cette migration (Tayeau & Nivet [414]), les auteurs relient l'hypoprotéinémie et l'hyperlipémie : ils estiment qu'en même temps que diminuent les protéines sériques, diminuent également et même disparaissent les enzymes responsables du phénomène de migration ; ainsi les lipides ne pouvant plus migrer seraient inutilisables par les tissus et s'accumuleraient dans la circulation.

Cette hypothèse s'est révélée inexacte par la suite, mais les auteurs avaient cependant observé un phénomène jouant incontestablement un rôle dans l'hyperlipémie.

On sait aujourd'hui, en effet, que le facteur clarifiant, sur lequel nous reviendrons dans les chapitres qui suivent, et qui intervient dans la lipémie, provoque, de même que l'incubation à 37° C, une migration des β-lipoprotéines en α-lipoprotéines [24] ; par ailleurs, on sait également que le plasma ayant subi l'action du facteur clarifiant cède plus

facilement ses lipides aux tissus [20]. Est-ce à dire que le phénomène décrit par Tayeau & Nivet [414] est identique à l'action du facteur clarifiant ? On aurait pu le penser, mais nous montrerons plus loin qu'il s'agit de deux phénomènes, éventuellement simultanés, mais cependant différents.

Nous verrons dans les chapitres qui suivent que l'absence de migration des lipoprotéines de β en α_2 (aussi bien après incubation qu'après action du facteur clarifiant) n'est pas due, comme l'avaient supposé Tayeau & Nivet, à une disparition enzymatique consécutive à l'hypoprotéinémie, mais en réalité à l'apparition dans le sang d'inhibiteurs de ces enzymes.

Il ne semble donc pas y avoir de relation de cause à effet entre l'hypoprotéinémie et l'hyperlipémie.

En effet, bien d'autres mécanismes, parfois intriqués, pourraient être à l'origine de l'élévation du taux des lipides sériques que l'on constate dans certaines affections.

Les hyperlipémies ont été ainsi attribuées, dans certains cas, à un apport lipidique trop important. L'exagération du processus normal d'apparition de l'hyperlipémie physiologique post-prandiale a été incriminée dans l'hyperlipémie essentielle (Tannhauser [393]), l'augmentation de l'apport lipidique exogène pouvant dépasser les possibilités d'hydrolyse (Bassett & Kuot [48]).

Un excès de synthèse des glycérides par le foie, utilisant des acides gras mobilisés à partir des dépôts périphériques, peut également entraîner une augmentation des lipides sériques.

Il peut se produire aussi un excès de production des acides gras à courte chaîne qui déborde alors les possibilités métaboliques du foie.

Il peut s'agir encore d'une mobilisation des graisses de réserve sous l'influence de substances hormonales (catécholamines, facteur hypophysaire : « lipid mobilizing hormon » [8, 100]).

Certaines hyperlipémies pourraient enfin être provoquées soit par une insuffisance d'élimination (ictères obstructifs et cirrhose biliaire xanthomateuse), soit par défaut de lipolyse (affections pancréatiques chroniques, myxœdèmes, certai-

nes insuffisances hypophysaires), soit par des anomalies de transport des triglycérides, soit enfin par des anomalies de la clarification [8].

II. — ACTION DU FACTEUR CLARIFIANT

L'hyperlipémie expérimentale que nous avons étudiée se caractérisant par l'aspect lactescent du sérum et un taux élevé de triglycérides, nous avons pensé que, parmi les différents mécanismes susceptibles de provoquer ce trouble métabolique, un défaut de lipoprotéine-lipase pourrait bien en être la cause.

C'est pourquoi, pour pallier l'absence éventuelle de cet enzyme endogène, nous avons eu l'idée d'en provoquer l'apparition par une injection d'héparine à l'animal en expérience. Mais, loin de clarifier le sérum et d'hydrolyser les triglycérides, ce polyoside présente plutôt un effet contraire comme le montrent les résultats qui figurent dans le tableau V.

TABLEAU V

Action d'une injection d'héparine (5 mg/kg) sur les lipides des sérums de trois lapins rendus hyperlipémiques et hypermucoprotéinémiques par saignées.

	Lipides totaux (g/l)	Cholestérol (g/l)	Phospholipides (g/l)	Acides gras estérifiés (g/l)	Glycérol libre (mg/l)	Glycérol estérifié (mg/l)
Avant héparine ..	4,60	0,44	0,90	2,10	16	116
Lendemain	6,50	0,53	1,30	3,60	10	176
Avant héparine ..	9,50	0,60	2,10	4,40	24	136
Lendemain	11,80	0,80	2,25	6,95	8	190
Avant héparine ..	8,05	0,66	1,65	4,10		
Lendemain	10,80	0,75	1,75	5,80		
Surlendemain ...	14,20	1,05	2,80	9,10		

On observe un effet semblable de l'héparine lorsque l'on compare le comportement à l'étuve du sérum d'un Lapin normal, celui du même Lapin rendu hyperlipémique par

saignées et celui de ce dernier vingt-quatre heures après l'injection d'héparine (tabl. VI).

TABLEAU VI

Variations des différentes fractions lipidiques au cours du séjour a l'étuve (72 heures à 37° C) d'un sérum de lapin : I. Normal ; II. Hyperlipémique ; III. Hyperlipémique ayant reçu une injection d'héparine la veille.

(G = glacière ; E = étuve.)

	Acides gras estérifiés (g/l)		Glycérol estérifié (mg/l)		Phospho-lipides (g/l)		Cholestérol (g/l)					
							total		libre		estérifié	
	G	E	G	E	G	E	G	E	G	E	G	E
I.	0,80	0,60	96	66	0,72	0,40	0,60	0,61	0,21	0,13	0,39	0.48
II.	4,40	4,00	250	240	1,50	1,49	0,70	0,73	0,18	0,17	0,52	0,56
III.	3,50	3,80	227	260	1,15	1,95	0,69	0,72	0,18	0,18	0,51	0,54

L'examen de ce tableau montre que le séjour à l'étuve provoque :

— Dans un sérum normal de Lapin, une diminution des acides gras estérifiés, des glycérides et des phospholipides. Le taux de cholestérol total n'est pas modifié, mais celui du cholestérol estérifié augmente aux dépens du cholestérol libre ;

— Dans un sérum de Lapin rendu hyperlipémique par saignées, une diminution bien moins importante des acides gras estérifiés, une variation minime des glycérides, des phospholipides et du cholestérol estérifié ;

— Dans le sérum d'un Lapin rendu hyperlipémique et ayant reçu la veille une injection d'héparine (5 mg/kg), une augmentation des acides gras estérifiés, des glycérides et des phospholipides, et pas de variation du cholestérol estérifié.

Ces expériences nous permettent de constater que, chez des animaux rendus hyperlipémiques, l'injection d'héparine, non seulement n'amène pas la clarification du sérum, mais encore s'oppose et même inverse les modifications habituellement observées au cours de l'incubation à l'étuve. Nous reviendrons plus loin, à la lumière d'autres expériences, sur l'interprétation de ces constatations.

III. — MUCOPROTÉINES ET FACTEUR CLARIFIANT

Que peut-on alors conclure de ces résultats assez inattendus ?

Des travaux antérieurs de Tayeau, Neuzil, Nivet & Grouillé [408] ont permis d'orienter nos recherches. Ces auteurs ont constaté chez le Lapin soumis à d'abondantes saignées journalières que l'apparition d'une hyperlipémie à sérum lactescent s'accompagne d'une élimination accrue de mucoprotéines urinaires. Quelques années auparavant, Werner [435] avait provoqué une hyperglucoprotéinémie chez le Lapin soumis au même traitement. Tayeau et coll., suivant parallèlement le taux des glucoprotéines sériques et la valeur du test de Donaggio (témoin de la mucoprotéinurie), montrent que la valeur de la réaction de Donaggio [1] reflète exactement les modifications des mucoprotéines plasmatiques [408, 58]. La figure 15, qui rend compte de l'une de ces

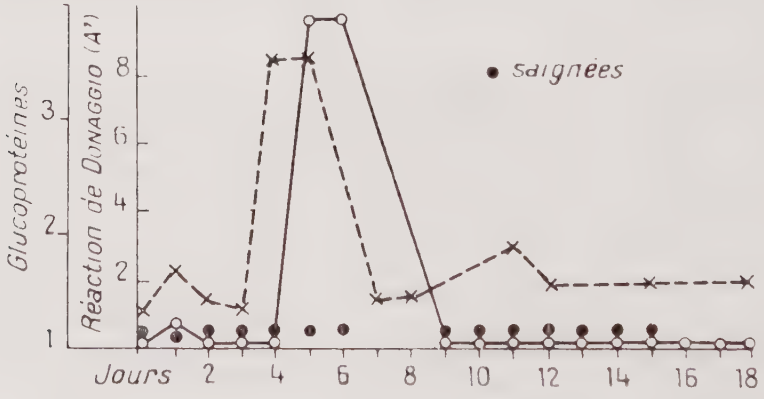

Fig. 15.

Courbes représentatives des variations des glucoprotéines sériques (exprimées par la valeur du rapport µg de glucosamine/mg de protéines) et du phénomène d'obstacle (mélange A' ; valeurs de l'échelle photométrique selon Tayeau [399]) en fonction du temps.
En traits pleins : phénomène d'obstacle.
En pointillé : glucoprotéines.

(1) Cette réaction, longtemps utilisée comme test de la fatigue, consiste à ajouter à de l'urine des solutions de thionine et de molybdate d'ammonium : avec une urine normale, il apparaît après un certain laps de temps un précipité violet surmonté d'un liquide incolore ; avec certaines urines, la précipitation ne se produit pas et le liquide reste uniformément coloré en violet ; la réaction est dite alors positive. Le mécanisme de cette réaction a été élucidé [403].

expériences, apporte un argument en faveur de l'origine sérique des mucoprotéines urinaires.

L'hyperlipémie étant concomitante de l'hypermucoprotéinémie, nous avons pensé que les mucoprotéines sériques pouvaient peut-être jouer un rôle dans l'augmentation des lipides sériques et l'apparition de la lactescence en empêchant par exemple l'action de la lipoprotéine-lipase.

L'inactivité de la lipoprotéine-lipase dans un sérum hypermucoprotéinémique est-elle en relation avec une stabilité accrue des lipoprotéines ? On connaît déjà des substances (saponosides, sels biliaires...) qui modifient le comportement de ces molécules [301, 411], empêchant en particulier les modifications électrophorétiques et l'estérification du cholestérol après séjour à l'étuve à 37° C.

Nous avons recherché si les mucoprotéines pouvaient, elles aussi, agir sur la stabilité des lipoprotéines. Dans ce but, nous avons étudié l'action, *in vitro*, des mucoprotéines extraites de l'urine sur le « phénomène étuve » décrit par Tayeau & Nivet.

Nous avons mis à incuber à 37° C pendant soixante-douze heures un sérum normal de Lapin (10 volumes) auquel nous avons ajouté une solution de mucoprotéines à 10 p. 100 (1 volume). Nous avons ensuite comparé ce mélange (comportement électrophorétique et estérification du cholestérol) avec le même sérum additionné d'eau physiologique.

Nous constatons (tabl. VII) que la mucoprotéine ajoutée au sérum n'empêche ni l'estérification du cholestérol, ni l'hydrolyse des phospholipides pendant le séjour à l'étuve.

TABLEAU VII

Etude du « phénomène étuve » sur un sérum de lapin normal (A) et sur un sérum additionné de mucoprotéines (B).

	Cholestérol (g/l)			Acides gras		Glycérol (mg/l)
	total	libre	estérifié	libres (mg/l)	estérifiés (g/l)	
A :						
Glacière	0,56	0,22	0,34	18	0,65	9
Etuve	0,58	0,14	0,44	24	0,57	9
B :						
Glacière	0,56	0,24	0,32	21	0,60	10
Etuve	0,54	0,10	0,44	23	0,69	7

La mucoprotéine semble donc être sans action sur l'activité des enzymes responsables de ces deux phénomènes (cholestérolestérase [1] et lécithinase). D'ailleurs, les lipoprotéinogrammes (*fig.* 16) confirment ces résultats. Cependant, on remarque que, dans le sérum additionné de mucoprotéine, il n'y a pas d'hydrolyse des glycérides, ce qui pourrait signifier que les mucoprotéines sont capables, *in vitro* et dans ces conditions expérimentales, de s'opposer à l'action de la lipoprotéine-lipase.

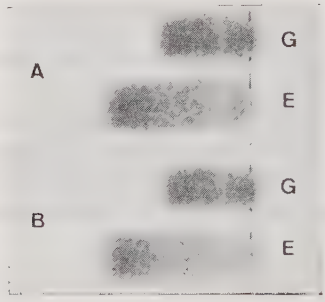

Fig. 16.

Lipoprotéinogrammes d'un sérum de Lapin normal (A) et du même sérum additionné de mucoprotéines (B) incubés à l'étuve à 37° C.

Le fait que, après séjour à l'étuve, le comportement électrophorétique du sérum additionné de mucoprotéine soit identique à celui du sérum témoin, nous amène à conclure que la mucoprotéine ne semble pas modifier les liaisons lipides-protides normales.

Pourtant, nous avions constaté (p. 51) que le sérum des lapins rendus hyperlipémiques et hypermucoprotéinémiques ne présente plus le « phénomène étuve ». Cela laisserait supposer que les mucoprotéines agiraient, non pas en modifiant la structure des lipoprotéines normales, mais en favorisant la formation de lipoprotéines d'un type différent dans leur composition et leur stabilité.

Nous avons vu également que les animaux présentant une hypermucoprotéinémie fournissent une réponse inhabituelle à l'héparine.

(1) Signalons que l'existence de la cholestérolestérase sérique, découverte par Sperry [375], a été mise en doute (Swell et Treadwell [391], Tayeau et Nivet [409]).

Les substances mucoprotéiques du plasma semblent donc, *in vivo*, s'opposer à la fois à l'action de la lipoprotéine-lipase induite par l'héparine et aux modifications habituellement observées lors de l'incubation d'un sérum à l'étuve. Cette constatation nous ayant amené à penser que le « phénomène étuve » pouvait correspondre à une activation du facteur clarifiant, nous avons comparé les modifications des lipoprotéines au cours de ces deux « phénomènes ».

Nous avons, d'une part, prélevé le sérum d'un Lapin normal et nous avons mis une partie de ce sérum à incuber à l'étuve à 37° C pendant soixante-douze heures, le reste étant conservé à + 4° C ; nous avons, d'autre part, injecté à un autre Lapin une solution d'héparine (5 mg/kg) et, quinze minutes après, nous avons recueilli son plasma.

Sur ces différents prélèvements, nous avons dosé les acides gras estérifiés, le glycérol et les phospholipides. Les résultats de ces dosages sont consignés dans le tableau VIII. Nous avons effectué d'autres expériences qui confirment entièrement celle que nous avons décrite.

TABLEAU VIII

VARIATIONS DU TAUX DES DIFFÉRENTES FRACTIONS LIPIDIQUES D'UN SÉRUM SOUMIS A L'INCUBATION A L'ÉTUVE A 37° C OU A L'ACTION DU FACTEUR CLARIFIANT.

	Acides gras estérifiés (g/l)	Acides gras libres (mg/l)	Glycérol des glycérides (mg/l)	Glycérol libre (mg/l)	Phospholipides (g/l)
Sérum glacière ...	0,80	9	96	4,5	0,75
Sérum étuve	0,60	16	66	8,5	0,40
Sérum avant héparine	1,20	13	144	6,5	0,32
Plasma après héparine	1,05	31	94	12,5	0,50

On remarque dans les deux cas une diminution des acides gras estérifiés et une hydrolyse des glycérides (diminution du glycérol des glycérides ou augmentation du glycérol libre et des acides gras libres), mais une diminution des phospholipides lors de l'incubation à l'étuve et, inversement, une augmentation de ceux-ci sous l'action du facteur clarifiant.

Si donc des analogies existent entre l'incubation à l'étuve et la clarification par injection d'héparine (hydrolyse des triglycérides, migration accélérée des fractions lipoprotéiniques lentes), il ne s'agit pas du même phénomène.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de l'élévation du taux des lipides sériques que l'on constate dans diverses affections. En particulier, dans l'hyperlipémie expérimentale obtenue par saignées répétées, le défaut en lipoprotéine-lipase ou l'inhibition de cet enzyme semble, selon nos recherches, être l'une des principales causes : nous avons montré, en effet, que, chez des animaux ainsi rendus hyperlipémiques, l'injection d'héparine n'amène pas la clarification du sérum et s'oppose — et même inverse — les modifications habituellement observées au cours de l'incubation du sérum à l'étuve.

Nous avons observé par ailleurs que les mucoprotéines éliminées dans l'urine de ces animaux s'opposent, *in vitro*, à l'hydrolyse des glycérides habituellement constatée au cours de l'incubation du sérum à l'étuve à 37° C.

Cependant, malgré certaines analogies existant entre les modifications provoquées dans un sérum par l'incubation à l'étuve et par l'action du facteur clarifiant, il ne semble pas s'agir du même phénomène : dans le premier cas, le substrat est surtout constitué par les phospholipides ; dans le second, par les glycérides.

CHAPITRE III

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DE LA LIPOPROTÉINE-LIPASE ET DE SON INHIBITION *IN VITRO* PAR CERTAINES MUCOPROTÉINES

Les résultats obtenus lors de nos expériences précédentes prouvent que les mucoprotéines sériques, dont le taux s'élève chez le lapin soumis à des saignées abondantes et répétées, sont douées de propriétés inhibitrices vis-à-vis de la clarification du sérum.

Ces substances sont éliminées dans l'urine d'où l'on peut les extraire [398, 373]. Ceci nous a permis d'étudier leur action vis-à-vis de l'activité clarifiante d'un plasma post-hépariné sur une suspension de triglycérides.

I. — ACTION D'UN PLASMA POST-HÉPARINÉ SUR UNE SUSPENSION DE TRIGLYCÉRIDES

L'étude de l'activité de la lipoprotéine-lipase [284, 182, 175] comprend deux étapes, la première étant la production de l'enzyme dans le sang par injection intraveineuse d'héparine, la seconde consistant à suivre *in vitro,* dans des conditions déterminées, la clarification d'une émulsion lipidique par le plasma post-hépariné, ainsi que l'élévation du glycérol libéré à la suite de l'hydrolyse enzymatique des graisses neutres.

1° *Obtention du plasma post-hépariné.*

On injecte à un lapin par voie intraveineuse 0,1 ml par kilo de poids d'une solution d'héparine à 50 milligrammes par millilitre, soit 5 milligrammes d'héparine par kilo de

poids. Exactement quinze minutes plus tard, on effectue un prélèvement de sang que l'on recueille dans un tube à centrifuger maintenu dans un bain de glace, pour éviter la dénaturation du facteur clarifiant. On centrifuge le plus rapidement possible dans une centrifugeuse réfrigérée et l'on recueille le plasma que l'on utilise soit immédiatement, soit après congélation.

2° *Substrat.*

Pous nos expériences, nous avons utilisé une émulsion de composition constante. Celle-ci, commercialisée sous le nom d'*Intralipid* [1], est à base d'huile de soja purifiée à 10 p. 100 dans un liquide aqueux contenant glycérol et lécithine.

3° *Mode opératoire.*

Dans une microcuve, on met successivement :

Plasma post-hépariné	1	ml
Intralipid dilué au dixième par de l'eau physiologique	0,2	ml
Solution d'albumine bovine à 10 p. 100 ..	0,065	ml
Eau physiologique	0,3	ml

On mélange et on mesure toutes les cinq minutes la densité optique au spectrophotomètre Beckman D.U. à 620 mμ jusqu'à clarification complète, en prenant comme témoin un échantillon de plasma non additionné d'Intralipid (tabl. IX).

TABLEAU IX

VARIATIONS EN FONCTION DU TEMPS DE LA DENSITÉ OPTIQUE ET DE LA QUANTITÉ DE GLYCÉROL APPARUE DANS UN MÉLANGE D'INTRALIPID ET DE PLASMA POST-HÉPARINÉ.

TEMPS (minutes)	D. O. × 1 000	GLYCÉROL LIBÉRÉ (μg)
0	102	0
5	79	
10	52	
15	34,5	100
20	27,5	
25	21	
30	18,5	110
35	18	
60	15	112

(1) Laboratoires Vitrum, Stockholm.

Le tracé de la courbe obtenue en portant les densités optiques en fonction du temps présente l'allure d'une courbe exponentielle (*fig.* 17, *courbe* 1) que l'on peut transformer en une droite (*fig.* 17, *courbe* 2) en remplaçant les densités optiques par leur logarithme décimal. Le coefficient angulaire K de cette droite définit l'activité clarifiante du plasma utilisé. On peut également mesurer ce coefficient en traçant une droite parallèle à la précédente et passant par un point toujours constant de l'abcisse, par exemple celui correspondant à trente minutes d'incubation. Cette parallèle coupe l'ordonnée en un point qui permet de calculer le K caractéristique de la réaction.

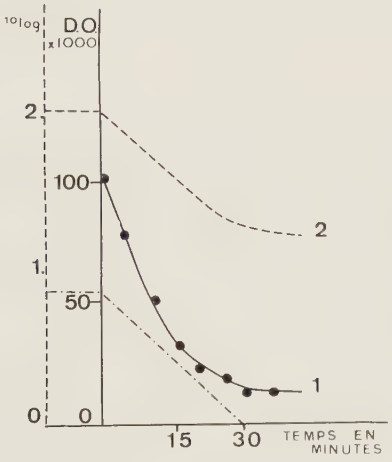

Fig. 17.

Clarification d'une suspension d'Intralipid par un plasma post-hépariné.
Tracé 1 - Ordonnée : D.O. × 1.000.
Tracé 2 - Ordonnée : ^{10}Log (D.O. × 1.000).

Parallèlement à la clarification de la suspension de triglycérides, nous avons suivi leur hydrolyse en dosant le glycérol libéré sous l'action de l'enzyme (tabl. IX et *fig.* 18). Le dosage a été réalisé par la méthode de Randrup [320] modifiée par Jover [209].

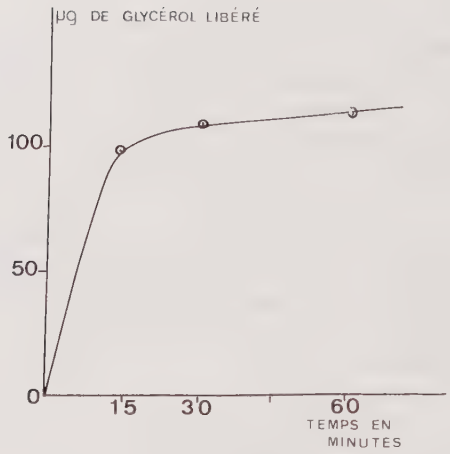

Fig. 18.

Libération du glycérol d'une suspension d'Intralipid par un plasma post-hépariné.

II. — ACTION DES MUCOPROTÉINES URINAIRES SUR LE PHÉNOMÈNE DE CLARIFICATION

A) Isolement de la mucoprotéine [398].

Nous avons soumis des lapins placés dans des cages à métabolisme à des saignées journalières (environ 30 ml de sang) et nous avons recueilli leurs urines. Celles-ci sont portées à ébullition pendant quelques minutes en présence d'acide acétique (1 p. 100). Après refroidissement, on filtre pour éliminer éventuellement les protéines. Le filtrat est dialysé vingt-quatre heures contre de l'eau courante, puis vingt-quatre heures encore contre de l'eau distillée. On le concentre alors au dixième de son volume en plaçant les sacs à dialyse devant un ventilateur ; on obtient ainsi une solution brun-noir que l'on centrifuge (élimination d'impuretés). Le liquide est alors additionné de cinq volumes d'alcool à 95 C. Des flocons blancs apparaissent ; on les recueille par centrifugation, puis on les dissout dans de l'eau distillée ; on obtient ainsi une solution brun foncé à laquelle on ajoute un excès d'alcool qui provoque de nouveau la précipitation du produit. On purifie la substance en répétant sept ou huit fois la dissolution dans l'eau et la précipitation par l'alcool. Finalement, on épuise le précipité avec de l'éther anhydre. Afin d'éviter une dénaturation de la substance, il y a intérêt à effectuer le traitement par l'alcool à une température inférieure à 0° C.

On obtient ainsi une substance qui, à l'état de traces en solution dans l'eau, fournit une réaction de Donaggio très positive.

B) Clarification en présence de mucoprotéines.

Pour tester les propriétés inhibitrices des mucoprotéines urinaires sur la clarification et sur l'hydrolyse de la suspension d'Intralipid par un plasma post-hépariné, nous avons repris nos expériences précédentes en remplaçant la solution d'albumine par celle de mucoprotéines (renfermant le même poids de protéines).

Nous avons suivi la clarification par la mesure de la densité optique à intervalles réguliers et dosé le glycérol libéré par l'hydrolyse des glycérides. Si l'on compare les chiffres obtenus en présence et en l'absence de mucoprotéines (tabl. X), on constate pour les premiers un ralentissement

TABLEAU X

Variations en fonction du temps de la densité optique et de la quantité de glycérol apparue dans un mélange d'Intralipid et de plasma post-héparine additionné d'albumine (A) ou de mucoprotéine (M).

Temps (minutes)	D. O. × 1 000		Glycérol libéré (µg)	
	A	M	A	M
0	320	335	0	0
5	240	325		
10	180	240		
15	130	225	100	15
20	100	215		
25	77	205		
30	70	195	110	30
60	40	175	115	70

dans la baisse de la densité optique (*fig.* 19) et dans l'hydrolyse des glycérides (*fig.* 20) et une diminution du coefficient K définissant l'activité clarifiante du plasma, qui passe de 0,70 à 0,35.

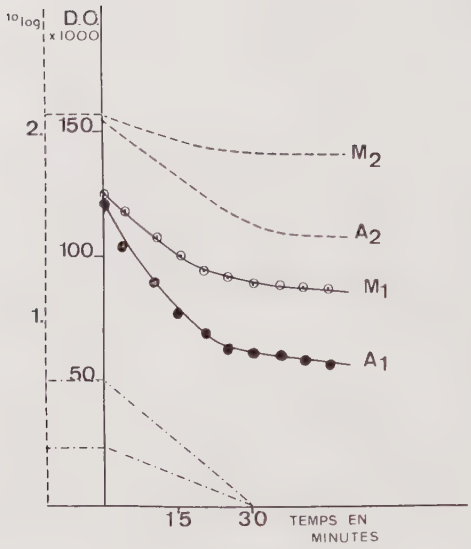

Fig. 19.

Clarification d'une suspension d'Intralipid par un plasma post-hépariné.

A : en présence d'albumine. M : en présence de mucoprotéine.
Tracés 1 - Ordonnée : D.O. × 1.000.
Tracés 2 - Ordonnée : ^{10} Log (D.O. × 1.000).

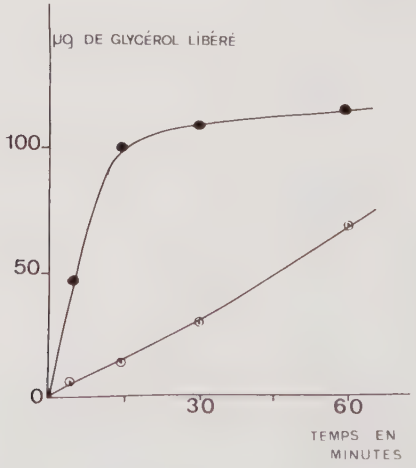

Fig. 20.

Libération du glycérol d'une suspension d'Intralipid par un plasma post-hépariné.

A : en présence d'albumine.
M : en présence de mucoprotéine.

Nous avons défini un coefficient d'inhibition I_{30} :

$$I_{30} = \frac{D_A - D_M}{D_A} \times 100$$

D_A correspond à la baisse de la densité optique en trente minutes dans le mélange contenant l'albumine ;

D_M correspond à la baisse de la densité optique en trente minutes dans le mélange contenant les mucoprotéines.

Dans l'expérience précédente, nous avons :

$$I_{30} = \frac{250 - 140}{250} \times 100 = 44$$

montrant que les mucoprotéines ajoutées au milieu entraînent une inhibition de la clarification de 44 p. 100.

Cette expérience prouve donc que l'addition de mucoprotéines extraites de l'urine de Lapins soumis à des saignées provoque un ralentissement important de l'action clarifiante et hydrolysante de la lipoprotéine-lipase.

Nous avons pu vérifier par la suite que d'autres mucoprotéines, celles, en particulier, extraites de l'urine de cancéreux, possèdent des propriétés analogues vis-à-vis du facteur clarifiant.

Désirant approfondir l'étude des propriétés inhibitrices de ces substances, nous avons recherché la dose de mucoprotéines capable d'inhiber au maximum l'activité de 1 millilitre de plasma de Lapin, prélevé quinze minutes après l'injection de 5 milligrammes par kilo de poids d'héparine.

Nous avons pour cela préparé des mélanges contenant des quantités de mucoprotéines allant de 0 à 60 milligrammes (0 à 0,6 ml d'une solution à 10 p. 100) pour 1 millilitre de plasma post-hépariné. Nous avons mesuré l'activité clarifiante K de ces mélanges vis-à-vis d'une suspension d'Intralipid et nous avons constaté que cette activité diminue lorsque la quantité de mucoprotéines ajoutée augmente. Si l'on représente graphiquement cette activité en fonction des quantités de mucoprotéines, on obtient la courbe de la figure 21, sur laquelle on peut voir que l'activité clarifiante atteint son minimum pour 0,4 ml de la solution d'inhibiteur.

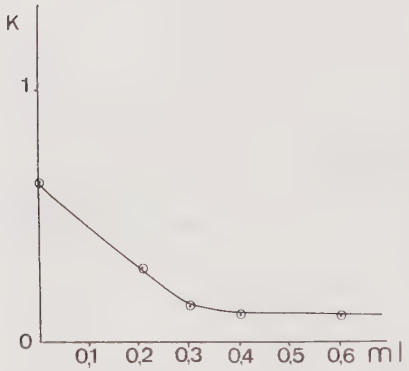

Fig. 21.

Courbe représentative de la diminution de l'activité clarifiante K d'un plasma post-hépariné en fonction de la quantité d'inhibiteur ajoutée (mucoprotéine en solution à 10 p. 100).

III. — ACTION D'UN SÉRUM HYPERLIPÉMIQUE SUR LE PHÉNOMÈNE DE CLARIFICATION

Nous savons que l'élimination de mucoprotéines dans l'urine est le reflet d'une hypermucoprotéinémie ; il semblait donc logique de penser que le sérum d'un lapin rendu hyperlipémique et hypermucoprotéinémique par saignées répétées pouvait posséder les mêmes propriétés inhibitrices vis-à-vis de la clarification d'une suspension d'Intralipid. Nous avons répété l'expérience précédente en remplaçant la solution de mucoprotéines par un tel sérum et nous avons noté, effectivement, un ralentissement de la clarification (*fig.* 22).

L'addition d'un sérum hyperlipémique ralentit donc la clarification d'un mélange d'Intralipid et d'un plasma post-hépariné. Mais un tel sérum hyperlipémique, qui est lactescent, n'est absolument pas clarifié par un plasma post-hépariné, ainsi que nous avons pu le constater. Ceci nous permet de penser que les triglycérides surajoutés (Intralipid) sont plus facilement hydrolysés que ceux existant dans le sérum lactescent, ce qui confirme notre hypothèse d'une modification de la stabilité des associations lipido-protéidiques des sérums lactescents.

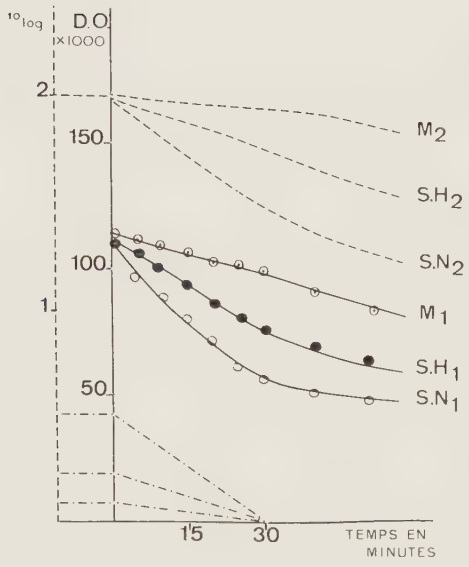

Fig. 22.

Action comparée d'un sérum normal (SN), d'un sérum hyperlipémique (SH) et d'une solution de mucoprotéines (M) sur la clarification, *in vitro*, d'une suspension d'Intralipid.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

Pour étudier l'activité de la lipoprotéine-lipase et son inhibition, *in vitro*, par la mucoprotéine, nous avons d'abord établi un protocole opératoire qui nous permette de suivre la clarification d'une émulsion lipidique par un plasma post-hépariné ainsi que la libération du glycérol. Nous avons déterminé un coefficient d'activité clarifiante K. Nous avons ensuite montré qu'en présence de mucoprotéines, il se produit un ralentissement important de l'action clarifiante (baisse du coefficient K) et hydrolysante (diminution de la quantité de glycérol libérée) de la lipoprotéine-lipase ; cette inhibition se manifeste également en présence d'un sérum hyperlipémique, riche en mucoprotéines.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DE L'ACTION INHIBITRICE, *IN VIVO*, DES MUCOPROTÉINES SUR LA FORMATION ET L'ACTIVITÉ DU FACTEUR CLARIFIANT

Nous avons pensé qu'il existait une certaine relation de structure entre les mucoprotéines et le facteur clarifiant. On sait [26] que le facteur clarifiant est formé d'une partie protéique sur laquelle vient se fixer l'héparine conférant au complexe les propriétés lipoprotéine-lipasiques. On peut rapprocher de cette structure la nature glucoprotéidique des mucoprotéines que nous avons étudiées. Les mucoprotéines ne pourraient-elles pas, du fait de cette similitude relative, s'opposer non seulement à l'action, mais également à la formation du facteur clarifiant ?

I. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ACTION INHIBITRICE DES MUCOPROTÉINES

Pour essayer de répondre à ces questions, nous avons injecté, dans une première série d'expériences, une solution de mucoprotéines (15 mg/kg) à un lapin, quinze minutes avant l'injection d'héparine, génératrice du facteur clarifiant. Le plasma, recueilli dans les conditions habituelles, possède une activité clarifiante normale : les mucoprotéines n'empêchent donc pas la formation du facteur clarifiant. Les mucoprotéines se comporteraient donc uniquement comme des inhibiteurs de ce dernier. Afin de confirmer le bien-fondé de cette conception, nous avons procédé à l'expérience suivante.

Dans un premier temps, nous avons vérifié qu'une injection d'héparine clarifiait le sérum d'un lapin rendu lactescent par une injection intraveineuse d'une suspension de triglycérides (Intralipid). Après avoir prélevé du sang et

recueilli le sérum, nous en avons mesuré la densité optique et dosé les lipides (A). Nous avons alors injecté dans la veine marginale de l'oreille de ce Lapin 5 millilitres de la suspension d'Intralipid à 10 p. 100 et nous avons attendu un quart d'heure pour permettre la diffusion de la suspension dans le système circulatoire. Après ce laps de temps, nous avons effectué un nouveau prélèvement de sang et mesuré également la densité optique et le taux des lipides sériques (B). Nous avons ensuite injecté 0,5 ml d'une solution d'héparine à 5 p. 100, et, quinze minutes après, nous avons recueilli le plasma sur lequel nous avons fait les mêmes déterminations (densité optique et lipides [C]).

Après l'injection de l'Intralipid, la densité optique a décuplé et le taux des lipides a doublé. Mais densité optique et lipides sont revenus à leur valeur initiale après l'injection d'héparine.

Dans un second temps, nous avons répété cette expérience le lendemain, sur le même animal, mais en faisant précéder, cette fois-ci, l'injection d'héparine d'une injection de mucoprotéines. Nous avons donc injecté la suspension d'Intralipid et, quelques minutes plus tard, la solution de mucoprotéine. Une prise de sang, effectuée quinze minutes après, nous a révélé une densité optique du sérum très élevée et un taux de lipides considérable (E). Cette fois-ci, l'injection d'héparine s'est révélée pratiquement inefficace sur la clarification du sérum (F).

Le tableau XI rassemble les différentes valeurs de la densité optique et des lipides obtenues dans cette expérience

TABLEAU XI

VARIATIONS DE LA DENSITÉ OPTIQUE ET DES LIPIDES D'UN SÉRUM RENDU LACTESCENT PAR INJECTION D'INTRALIPID SOUS L'ACTION DE L'HÉPARINE ET DES MUCOPROTÉINES.

	D. O.	LIPIDES
Début de l'expérience (A)	0,08	2,10
Injection d'Intralipid (B)	0,80	4,20
Injection d'héparine (C)	0,06	2,00
.....	....	.....
Injection d'Intralipid (D)	0,78	4,15
Injection de mucoprotéines (E)	2,56	45,00
Injection d'héparine (F)	2,16	42,00

et le graphique ci-dessous (*fig.* 23) montre clairement l'augmentation considérable de la lipémie et de la lactescence du sérum après l'injection des mucoprotéines.

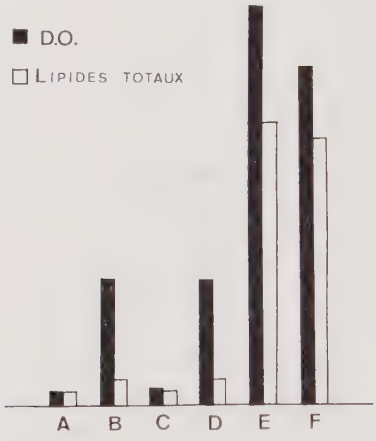

FIG. 23.

Variations de la D.O. et des lipides d'un sérum (A) rendu lactescent par injection d'Intralipid (B) (D) sous l'action de l'héparine (C) (F) et des mucoprotéines (E).

Ces résultats rappellent ceux que nous avons observés déjà *in vitro* : le facteur clarifiant peut hydrolyser partiellement les triglycérides de l'Intralipid, mais se montre sans action sur le sérum hyperlipémique.

Nous avons été surpris par cette augmentation considérable de la lactescence du sérum et de sa richesse en lipides à la suite de l'injection des mucoprotéines. Afin de confirmer et d'étudier plus en détail ce phénomène, nous avons administré à un Lapin, par voie intraveineuse, une solution de mucoprotéines (15 mg/kg). Un quart d'heure après, le sérum est normal, mais un prélèvement effectué le lendemain montre une augmentation importante de la densité optique du sérum ; une injection d'héparine (5 mg/kg) ne provoque pas sa clarification. De plus, ce sérum lactescent n'est pas clarifiable *in vitro* par un plasma post-hépariné.

Sur les sérums prélevés avant et après chaque injection, nous avons dosé les différentes fractions lipidiques. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XII ; nous pouvons alors remarquer l'augmentation importante des

lipides totaux, des phospholipides, du glycérol et des acides gras estérifiés (*fig.* 24).

TABLEAU XII

TAUX DES DIFFÉRENTES FRACTIONS LIPIDIQUES D'UN SÉRUM DE LAPIN APRÈS INJECTION DE MUCOPROTÉINES PUIS D'HÉPARINE

	Lipides totaux (g/l)	Cholestérol			Phospholipides (g/l)	Glycérol (mg/l)	Ac. gras libres (mg/l)	Ac. gras estérifiés (g/l)
		total (g/l)	libre (g/l)	estérifié (g/l)				
Début de l'expérience (A) ...	1,66	0,40	0,15	0,25	0,25	5,7	19	0,90
Après injection de mucoprotéines (B) ...	1,60	0,40	0,15	0,25	0,25	6,7	20	0,85
Le lendemain (C)	10,50	1,10	0,35	0,75	1,65	85	62	5,60
Après injection d'héparine (D)	9,30	1,0	0,35	0,45	1,70	27	66	4,90

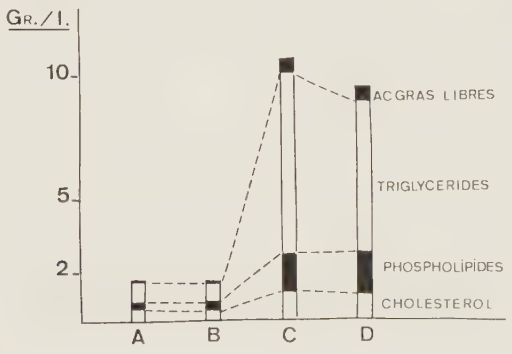

FIG. 24.

Représentation graphique du taux des différentes fractions lipidiques d'un sérum de Lapin après injection de mucoprotéines puis d'héparine.

L'injection de mucoprotéines entraîne donc une augmentation de la lipémie dans les vingt-quatre heures qui suivent, mais cette élévation est cependant moins élevée que celle observée dans l'expérience précédente. Or, dans cette dernière, le Lapin avait reçu auparavant une injection d'héparine ; n'y aurait-il pas alors une synergie entre ces deux substances, l'héparine potentialisant l'action de la muco-

protéine ? Afin de vérifier le bien-fondé de cette hypothèse, nous avons fait une autre série d'expériences dans lesquelles nous avons injecté, simultanément ou à quinze minutes d'intervalle, les solutions d'héparine (0,5 ml à 5 p. 100) et de mucoprotéines (1 ml à 5 p. 100).

Nous avons pu observer alors une augmentation considérable des lipides dans les vingt-quatre heures qui suivent cette double injection. Cette augmentation porte sur toutes les fractions : relativement faible pour le cholestérol, elle est très importante pour les phospholipides (tabl. XIII).

TABLEAU XIII

Taux des différentes fractions lipidiques d'un sérum de Lapin après injection simultanée de mucoprotéines et d'héparine.

Temps après l'injection	Lactescence	Lipides totaux (g/l)	Cholestérol			Phospholipides (g/l)	Glycérol (mg/l)	Acides gras	
			total (g/l)	libre (g/l)	estérifié (g/l)			libres (mg/l)	estérifiés (g/l)
15 minutes .	0	2,30	0,50	0,35	0,15	0,25	10	8	2
24 heures ...	+++	31,40	1,10	0,15	0,95	2,80	250	130	22,50

Devant l'intensité de la réaction observée, nous nous sommes demandé si nous ne nous trouvions pas devant un phénomène immunologique. Nous avons donc repris ces expériences, mais, cette fois, nous avons injecté à un lapin une solution de mucoprotéines extraites de ses urines : nous avons saigné l'animal neuf jours consécutifs pendant lesquels nous avons recueilli ses urines. Nous en avons extrait les mucoprotéines et, quelques jours plus tard, nous les avons injectées avec de l'héparine aux mêmes doses que dans les expériences précédentes. Là encore, nous avons observé une augmentation importante de la lipémie le lendemain et encore plus forte le surlendemain avec lactescence du sérum. L'augmentation porte, comme nous l'avons déjà vu, principalement sur les phospholipides et les lipides neutres (tabl. XIV).

TABLEAU XIV

Taux des différentes fractions lipidiques d'un sérum de Lapin après injection de mucoprotéines extraites de son urine et d'héparine.

Temps après l'injection	Lipides totaux (g/l)	Phospho-lipides (g/l)	Cholestérol (g/l)	Lipides neutres (g/l)
0	6	1,50	1,00	3,50
24 heures	16	3,75	1,65	10,60
48 heures	30	7,10	2,10	20,80

Aucune réaction immunologique n'intervient donc dans ce phénomène.

Il semble qu'en présence d'un taux élevé de mucoprotéines sériques, endogènes ou injectées par voie intraveineuse, on assiste à une augmentation massive et rapide des lipides sériques.

Nous avons vu que, *in vitro,* ces substances glycoprotéiques sont capables d'inhiber le facteur clarifiant posthépariné. Ces glycoprotéines pourraient également, *in vivo*, provoquer une inhibition de la lipoprotéine-lipase endogène, amenant une accumulation des lipides sériques sous une forme non métabolisable. Cela nous a amené à penser que l'hyperlipémie constatée chez les Lapins soumis à des saignées répétées était, au moins en partie, causée par une hypermucoprotéinémie.

Plusieurs hypothèses sont susceptibles d'expliquer l'inhibition du facteur clarifiant par la mucoprotéine.

— Elle pourrait intervenir dans la synthèse de lipoprotéines ayant un comportement particulier dû à une composition lipidique, et peut-être même protidique, différente de celles des lipoprotéines normales. La stabilité particulière de ces nouvelles molécules pourrait les rendre insensibles à l'action de la lipoprotéine-lipase.

— Les saignées abondantes et répétées auxquelles sont soumis nos animaux entraînent, nous l'avons vu, une chute de la protéinémie et par conséquent celle de l'albumine, cofacteur-récepteur de la lipoprotéine-lipase. Ce défaut de cofacteur

amènerait une accumulation des acides gras qui ne peuvent plus être véhiculés vers les tissus. On peut penser que, pour pallier cette déficience, la mucoprotéine fixe les acides gras, mais que cette association, insuffisamment labile, ne permettrait plus la libération de ces acides au niveau des tissus.

— Une troisième hypothèse fait intervenir la mucoprotéine comme inhibiteur de l'enzyme lui-même. Elle pourrait agir, par exemple, en neutralisant l'héparine.

— On peut également penser que la mucoprotéine, se fixant sur les lipoprotéines, stoppe alors les transformations normalement produites par action de la lipoprotéine-lipase.

— Enfin, il pourrait s'agir d'une action physiologique faisant intervenir l'hypophyse et les surrénales [362].

Un certain nombre de ces hypothèses ont déjà été formulées à propos de l'action inhibitrice du sulfate de protamine vis-à-vis du facteur clarifiant (Laudat & de Gennes [233], Anfinsen [36], Spitzer [377], Seifter & Baeder [360]) et il n'est pas impossible que le sulfate de protamine et la mucoprotéine possèdent un mécanisme d'action semblable.

Cette dernière, qui existe en quantité minime dans le sang d'un sujet normal, et qui apparaît en quantité appréciable dans l'urine d'un individu ou d'un animal soumis à une agression, constitue donc un inhibiteur naturel du facteur clarifiant. Déjà, nous l'avons vu, Hollett & Meng [195] avaient isolé du plasma post-hépariné un dérivé de nature glycoprotéidique inhibiteur de la lipoprotéine-lipase. Cette substance présente un certain nombre d'analogies avec la mucoprotéine que nous avons étudiée : toutes les deux, de nature glycoprotéidique, sont thermostables, non dialysables, insolubles dans l'alcool et riches en osamine.

Il faut cependant noter que la mucoprotéine que nous extrayons de l'urine par précipitation alcoolique n'est pas en réalité une substance pure, mais un mélange de plusieurs glycoprotéines qui ne sont peut-être pas toutes douées de la même propriété (Biserte, Tayeau, Montreuil, Holleman, Dautrevaux [58]). La composition de la substance la plus abondante a été déterminée qualitativement [398] et quantitativement [58]. Bourrillon [67 à 70] a d'ailleurs pu par la suite, à partir de l'adialysable de l'urine normale, extraire plusieurs glycoprotéines plus ou moins riches en glucides. En appliquant la technique de fractionnement de Bourrillon à la mucoprotéine, nous avons obtenu essentiellement deux

fractions : l'une riche en glucides (correspondant à la fraction F_{80} de Bourrillon), l'autre plus pauvre en substances glucidiques et correspondant à la fraction F_{50} de ce même auteur.

Nous nous sommes proposé de voir si l'une ou l'autre de ces fractions était plus particulièrement douée d'activité vis-à-vis de la lipoprotéine-lipase. Mais nos résultats, trop peu significatifs, ne nous permettant pas, pour l'instant, de conclure. Nous avons l'intention de poursuivre ces recherches, d'étudier éventuellement la fraction active de ce mélange et d'en déterminer la séquence en acides aminés, ainsi que la composition de la partie glucidique.

Mais une augmentation aussi importante et aussi rapide des lipides sériques ne peut être expliquée seulement par une inhibition de la lipoprotéine-lipase endogène. Il semble qu'à côté de ce phénomène on assiste à une mobilisation des lipides, probablement à partir des graisses de dépôt. Ce fait n'est pas nouveau, car des travaux antérieurs montraient déjà l'existence dans l'urine de sujets normaux, dans certaines conditions, d'une substance intervenant dans le métabolisme des graisses.

C'est ainsi que Weil & Stetten [431], en 1947, isolèrent de l'urine de Lapins à jeun une substance qui, injectée à la Souris, provoque une augmentation des graisses du foie.

Chalmers & coll. [99] ont également mis en évidence et extrait une substance semblable dans l'urine de sujets soumis au jeûne. Injectée à la Souris, cette substance mobilise les graisses à partir des dépôts, augmente leur taux dans le foie et semble accélérer leur « turn-over ». Ces auteurs précisent qu'ils ne retrouvent pas cette substance dans l'urine de ces mêmes sujets après un repas normal. Ces mêmes auteurs [100] l'ont par la suite purifiée, analysée et ont montré qu'il s'agissait d'une glycoprotéine peu riche en glucides, thermostable, contenant environ 8 p. 100 d'azote. L'hypophyse semble indispensable à sa production [231, 348]. Kadas & Nagy [210], Beaton, Szlavko & Stevenson [51, 380] ont aussi isolé [50] et purifié [52] une substance douée des mêmes propriétés [49, 381]. Enfin, Seifter & Baeder [359] ont mis en évidence, chez l'animal traité par la cortisone ou soumis à une agression, un facteur plasmatique mobilisant les lipides à partir des réserves. Ce facteur s'est montré, *in vitro,* un inhibiteur du facteur clarifiant et, fait particulier, il produit une hyperlipémie par injection à

l'animal. Les autres inhibiteurs du facteur clarifiant, à l'exception de la protamine, ne sont pas capables de provoquer une hyperlipémie. Pourtant, ce facteur agit d'une manière différente de la protamine : il provoque encore une élévation de la lipémie chez l'animal hypophysectomisé, alors que la protamine n'agit plus.

II. — RÉFLEXIONS SUR LES RELATIONS POSSIBLES ENTRE L'ACTION INHIBITRICE DES MUCOPROTÉINES ET CERTAINES OBSERVATIONS CLINIQUES OU EXPÉRIMENTALES.

1° Réflexions sur l'hyperlipémie dans le syndrome néphrotique.

De nombreuses études et revues générales ont été publiées sur la néphrose lipoïdique. Nous ne saurions, dans cette thèse, consacrée surtout à l'hyperlipémie expérimentale, les passer en revue. Nous nous contenterons de signaler ce qui nous apparaît comme essentiel dans les limites qui nous préoccupent.

Bien des hypothèses, la plupart fondées sur des faits expérimentaux, ont cherché à fournir des explications sur l'hyperlipémie du syndrome néphrotique.

Une synthèse accrue des lipides hépatiques a été envisagée [344] ; cependant, des expériences mettant en jeu les isotopes indiquent que, chez les néphrotiques, la biosynthèse hépatique du cholestérol se trouve ralentie [83, 258] !

Une diminution de la vitesse de destruction des lipides plasmatiques a pu également être mise en évidence [55, 387].

Mettant en jeu un test à l'éther du type de celui décrit par Tayeau & coll. [419], Reubi & Schmid [326] ont pu prouver que, dans le rein, les lipoprotéines du sang efférent se montraient beaucoup moins stables que celles du sang afférent ; or, on sait le rôle que joue la stabilité des lipoprotéines dans les hyperlipémies ; il faudrait donc envisager comme élément causal de l'hyperlipémie une altération fonctionnelle tubulaire [14].

Il semble que ces diverses hypothèses ne soient pas à rejeter, mais elles ne suffisent pas cependant à expliquer l'hyperlipémie massive observée chez les néphrotiques. La diminution d'activité du facteur clarifiant [359, 357, 344] mérite d'être envisagée et cette diminution doit être reliée, semble-t-il, à la présence d'un inhibiteur [359, 357] ; il est intéressant, compte tenu de nos recherches précédemment exposées, de rapprocher de cette assertion celle de Muehrcke & coll. [291], ayant mis en évidence la présence de muco-

protéines dans les parois des capillaires glomérulaires des reins néphrotiques.

Cette explication n'est pas cependant sans susciter des critiques : on a pu prouver, grâce à la mise en œuvre d'éléments isotopiques, que la libération des acides gras s'effectuait aussi bien au sein d'un plasma néphrotique que dans un plasma normal, mais, dans le premier, la clarification ne s'effectue pas ! L'absence de clarification ne serait donc pas due exclusivement à la diminution du facteur clarifiant ou à la présence en quantité anormale de son inhibiteur, mais plutôt à l'absence de récepteur d'acides gras, c'est-à-dire de sérumalbumine. D'ailleurs, il est bien connu qu'après une perfusion de sérumalbumine, le plasma du néphrotique s'éclaircit très nettement [343].

Le syndrome néphrotique est donc extrêmement complexe et l'hyperlipémie qui, entre autres choses, le caractérise, relève certainement de plusieurs facteurs.

2° Réflexions sur le traitement par l'héparine dans la maladie athéromateuse.

Parmi les nombreux symptômes observés dans la maladie athéromateuse, il convient de mentionner une élévation des β-lipoprotéines plasmatiques. Or, comme nous l'avons signalé plus haut, ces β-lipoprotéines, que l'on pourrait considérer comme de petits chylomicrons, sont « attaquées » par le facteur clarifiant. Ces β-lipoprotéines ayant été rendues responsables du dépôt des lipides dans les parois vasculaires, on conçoit dès lors l'utilisation de l'héparine, générateur *in vivo* de facteur clarifiant, dans le traitement de la maladie athéromateuse.

Nombreuses sont les observations ayant mis en évidence les modifications quantitatives et qualitatives de la lipémie des athéromateux sous l'influence du traitement par l'héparine. Parmi ces observations, nous retiendrons celles de Laborit & coll. [229] Warembourg & coll. [427, 428, 429], Loeper & Housset [255], Graham & coll. [181], etc. Cependant, dans bien des cas, des échecs ont été signalés et, pour ces cas, on a émis l'hypothèse de la présence dans le sang d'un inhibiteur de la clarification. Nous pensons, pour notre part, que cette explication s'avère valable, car, en présence d'inhibiteur naturel, ce qui peut se produire chez les athéromateux [42, 40, 308], l'héparine agit alors en sens inverse, comme nous l'avons démontré plus haut.

Nous espérons, dans les temps qui viennent, nous attacher à ce problème.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

L'injection de mucoprotéines à des Lapins provoque en vingt-quatre heures une forte augmentation de la lipémie qui concerne toutes les fractions lipidiques, mais principalement les triglycérides et les phospholipides. Le sérum est lactescent et une injection d'héparine n'amène pas de clarification. Plus encore, l'injection simultanée de mucoprotéines et d'héparine amène une augmentation encore plus importante de la lipémie qui peut atteindre des taux considérables !

Nous avons attribué ce phénomène à une double action des mucoprotéines *in vivo*. D'une part, elles inhiberaient le facteur clarifiant endogène par un mécanisme non élucidé et pour lequel nous avons émis plusieurs hypothèses. D'autre part, elles agiraient en mobilisant les lipides de réserve, amenant une forte lipémie.

Ces résultats nous permettent d'ouvrir une discussion sur l'hyperlipémie du syndrome néphrotique et sur le traitement des athéromateux par l'héparine.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Notre travail concerne l'hyperlipémie expérimentale provoquée chez le Lapin par la technique des saignées répétées.

Le mécanisme d'apparition de cette hyperlipémie est envisagé sous l'optique biochimique. Ce mécanisme met en jeu des modifications de structure des lipoprotéines sériques et l'inhibition du facteur clarifiant. On comprend ainsi que, dans une première partie, nous présentions un rappel des connaissances essentielles sur les lipoprotéines sériques (chap. I) et sur la facteur clarifiant (chap. II).

La seconde partie est réservée à nos recherches personnelles.

Dans un premier chapitre, nous étudions les modifications quantitatives et qualitatives des constituants lipoprotéiques du sérum au cours de saignées successives. Nos résultats, comparés à ceux d'autres auteurs ayant étudié également les hyperlipémies expérimentales, mettent en évidence l'importance de la technique utilisée dans la production de l'hyperlipémie.

Dans le second chapitre, nous discutons les conceptions de divers auteurs sur le mécanisme d'apparition des hyperlipémies et en particulier sur les rapports physiologiques entre l'hypoprotéinémie et l'hyperlipémie. A la lumière de nos expériences, nous démontrons que l'hyperlipémie expérimentale doit être reliée à l'inactivité de la lipoprotéine-lipase (facteur clarifiant). Recherchant la cause de cette inactivité, nous prouvons que les mucoprotéines qui apparaissent dans le sang, puis dans l'urine, chaque fois qu'un animal, ou même l'Homme, se trouve soumis à une agression, constituent l'inhibiteur naturel du facteur clarifiant.

Le chapitre III comporte l'étude de l'action exercée *in*

vitro par les mucoprotéines sur la lipoprotéine-lipase, grâce à un coefficient *d'activité clarifiante,* que nous avons défini.

Dans le chapitre IV, nous étudions les modifications subies *in vivo* par les diverses substances lipidiques du sérum sous l'action des mucoprotéines.

Nous nous trouvons alors amené à mettre en évidence un phénomène nouveau : l'action synergique exercée dans certaines conditions par l'héparine *in vivo* vis-à-vis de l'inhibition du facteur clarifiant. Cette action apparaît *a priori* paradoxale ! L'héparine suscitant *in vivo* l'apparition du facteur clarifiant, on pouvait penser qu'elle agissait au contraire comme antagoniste de l'inhibiteur ; il n'en est rien et, lorsque l'héparine est injectée en même temps que ce dernier, l'effet inhibiteur se trouve renforcé !

Cette constatation permet peut-être d'expliquer l'échec observé dans certains cas par la thérapeutique à base d'héparine, notamment dans la maladie athéromateuse.

Nous espérons que les résultats obtenus au cours de ce travail permettront d'éclairer d'un jour nouveau la pathogénie de certaines affections, la néphrose lipoïdique et l'athéromatose en particulier.

BIBLIOGRAPHIE

REVUES GÉNÉRALES

1. Bragdon (J. H.). — Lipoprotein lipase. *In :* The lipoproteins methods and clinical significance, 1 vol. (Homburger & Bernfeld, edit.), New York, 1958, 37-46.

1bis. Cenciotti (L.) & Mariotti (A.). — Clearing factor e metabolismo lipidico. *Minerva med.*, 1959, **60**, 3792-3801.

2. Engelberg (M. D.). — Heparin lipemia clearing reaction and fat transport in man. Summary of available knowledge. *Amer. J. clin. Nutr.*, 1960, **8**, 21-33.

3. Fredrickson (D. S.) & Levy (R. I.). — A functional view of the plasma lipoproteins. *In* « 16 Coll. Gesellsch. physiol. Chem. Mosbach, Baden, 1965, Lipoïde ». Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag 1966, 124-139.

4. Gennes (J.-L. de) & Bouchon (J.-P.). — Les hyperlipémies ou hyperglycérinémies idiopathiques. *Rev. Prat.*, 1965, **15**, 4095-4116.

5. Gennes (J.-L. de) & Maunand (B.). — Les hypercholestérolémies familiales. *Rev. Prat.*, 1965, **15**, 4068-4089.

5bis. Gurd (F. R. N.). — Association of lipides with proteins. *In :* Lipide Chemistry (Wiley, édit.), New York, 1960, 208-259.

5ter. Jensen (R.) & Aubertin (J.). — Structure des lipoprotéines. *Bordeaux méd.*, à paraître.

6. Korn (E. D.). — The assay of lipoprotein lipase *in vivo* and *in vitro*. *In :* Methods of Biochemical Analysis (Glick, Interscience, édit.), New York, 1959, 145-192.

7. Korn (E. D.) & Quigley (T. W.). — On the nature of lipoproteine lipase. *In* « IIIrd Int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, édit.), Brussels, 1956, 255-262.

8. Larcan (A.). — Les hyperlipémies « essentielles ». Leurs aspects cliniques et biologiques actuels. *Presse méd.*, 1963, **71**, 2243-2246.

9. Laudat (Ph.). — Etat physicochimique des lipides circulants. *Rev. Prat.*, 1965, **15**, 4021-4032.

10. Lejtes (F. L.). — La lipoprotéine-lipase. (En russe.) *Usp. sovrem. Biol. S.S.S.R.*, 1965, **59**, 226-245.

11. Levy (S. W.). — Heparin and blood lipids. *Rev. canad. Biol.*, 1958, **17**, 1-61.

11bis. Linderen (T.) & Nichols (A. V.). — Structure and function of human serum lipoproteins. *In :* The plasma proteins (Academic Press, edit.), New York, 1960, 1-58.

12. Machebœuf (M.). — Les cénapses lipidoprotéidiques. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1945, **5**, 71-104.

13. Muller (G.). — Characterisierung des Clearing-Factors, seines Substrates, seiner Reaktionsbedingungen und seiner Beeinflussbarkeit *in vitro. Inaug.-Diss. Doct. Pharm.*, Bern, 1956. Basel, Druck von Benno Schwabe, 1956.

14. Naffah (J.). — Néphrose lipoïdique. Etude clinique et physiopathologique. A propos de vingt-sept cas de l'adulte. Thèse Doct. Méd., Paris, 1953 (Cario, édit.), 311 p.

15. Nikkila (E.). — Studies on the lipid-protein relationships in normal and pathological sera and the effect of heparin on serum lipoproteins. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1953, **5**, supplément 8, 101 p.

16. Polonovski (J.). — Les lipoprotéines sériques. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1957, **19**, 69-86.

16bis. Putnam (F. W.). — Structure and function of the plasma proteins. *In :* The proteins (Academic Press, édit.), 1965, vol. III, 154-253.

17. Revol (A.) & Trouyez (R.). — Les lipides circulants. Nature. Moyens d'étude. Interprétation des résultats. *In* Biochimie des lipides (S.I.M.E.P., édit.), Lyon, 1967, 69-98.

18. Robinson (D. S.). — The heparin clearing reaction. *Pharm. Weekbl.*, 1957, **92**, 949-962.

19 Robinson (D. S.). — The heparin clearing reaction. *Amer. J. clin. Nutr.*, 1960, **8**, 7-20.

20. Robinson (D. S.). — The clearing factor lipase and its action in the transport of fatty acids between the blood and the tissues. *Advanc. Lipid Res.*, 1963, **1**, 133-182.

21. Robinson (D. S.) & French (J. E.). — The heparin clearing reaction and fat transport. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1957, **42**, 151-163.

21bis. Scanu (A. M.). — Factors affecting lipoproteins metabolism. *In :* Advances in lipid research (Academic Press, édit.), 1965, vol. III, 63-138.

22. Tayeau (F.). — Recherches sur la nature, la stabilité et le rôle biologique des liaisons unissant les lipides et les protéides dans le sérum sanguin. Thèse Doct. Sci., Bordeaux, 1939.

23. Tayeau (F.). — Quelques aspects physicochimiques et physiopathologiques du cholestérol sérique. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1955, **17**, 213-249. (Voir également [16, 82, 3].)

24. Tayeau (F.), Jensen (R.) & Aubertin (J.). — Le facteur clarifiant. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1965, **26**, 117-213. (Voir également [10, 13, 25, 11].)

25. Visser (J.). — Clearing factor en lipoproteinen, 1 vol. (Drukkery schotanus E. Jens, édit.), Utrecht, 1958, 242 p.

26. Wolff (J.). — Recherches sur le facteur clarifiant et le facteur inhibiteur en clinique. Thèse Doct. Méd., Nancy, 1960. (Voir également [440, 232].)

27. Wolff (R.) & Wolff (J.). — Recherches récentes sur le facteur clarifiant en pathologie. *Sem. hôp. Paris* (*Path. biol.*), 1960, **8**, 1473-1485.

—

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

28. Adlesberg (D.). — Inborn errors of lipid metabolism. Clinical, genetic and chemical aspects. *Arch. Path.*, 1965, **60**, 481-492.

29. Adlesberg (D.), Bossak (E. T.), Sher (I. H.) & Sobotka (H.). — Electrophoresis and monomolecular layer studies with serum lipoproteins. *Clin. Chem.*, 1955, **1**, 18-33.

30. Adner (L.). — Studies on the flocculation reactions of serum proteins. *In:* Almqvist & Wiksells Boktryckeri A.B., Uppsala, 1957, 12.

31. Ahrens (E. H. Jr.) & Kunkel (H. G.). — The stabilization of serum lipid emulsions by serum phospholipids. *J. exp. Med.*, 1949, **90**, 409-424.

32. Albrink (M. J.) & Man (E. B.). — Effect of carbohydrate ingestion on postprandial lipemia. *Amer. J. dig. Dis.*, 1957, **2**, 649-653. (Voir aussi [102, 112, 426].)

33. Ammerman (C. B.), Iacono (J. M.), Wendel (L. P.) & Isaac (G. J.). — Effects of caloric intake on clearance of injected lipids in rabbits and rats. *Amer. J. Physiol.*, 1961, **200**, 75-79.

34. Anderson (N. G.) & Fawcett (B.). — An antichylomicronemic substance produced by heparin injection. *Proc. Soc. biol. Chem.*, 1950, **74**, 768-771.

35. Andreini (A.). — The clearing factor in relation to the diagnosis and treatment of the atheromasic process. *G. geront.*, 1960, **8**, 559-563.

36. Anfinsen (C. B.). — Physiological aspects of lipid transport. Symposium on atherosclerosis. Public. 338 National Acad. Sci., Nat. Res. Council, 1954, 217.

37. Anfinsen (C. B.). — Funzione dell' eparina nel metabolismo delle lipoproteine. *R.C. Ist. sup. Sanità*, 1956, **19**, suppl., 181-196.

38. Anfinsen (C. B.), Boyle (E.) & Brown (B. K.). — The role of heparin in lipoprotein metabolism. *Science*, 1952, **115**, 583-586.

39. Angerwall (G.). — Lipoprotein lipase activity in adipose tissue from hen, chicken and adult human. *Acta physiol. scand.*, 1960, **48**, 71-77. (Voir également [295].)

40. Angerwall (G.) & Hood (B.). — Studies on heparin and lipemia clearing factor. Inhibition towards clearing in plasma from normal and atherosclerotic individuals. *Acta med. scand.*, 1957, **47**, 407-415.

41. Antonini (F. M.), Masi (R.) & Verdi (G.). — Effect of nicotinic acid on serum lipids and clearing factors. *G. geront.*, 1959, **7**, 783-792. D'après *C.A.*, 1960, **54**, 5951 c.

42. Antonini (F. M.) & Salvini (L.). — Mucopolysaccharides, « Clearing Factor », Age and Arteriosclerosis. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.*, 1957, **13**, 209-228.

43. Aron (M.). — Présence d'un principe spécifique dans l'urine des individus atteints de cancer. Application à un procédé de diagnostic du cancer et essai d'interprétation de la nature de ce principe. *Presse méd.*, 1934, **41**, 833-836.

44. Aubertin (J.). — Contribution à l'étude du pouvoir clarifiant du sérum sanguin. Comportement des protéines sériques vis-à-vis d'une suspension de cholestérol. Thèse Doct. Sci., Bordeaux, 1964.

45. Azerad (E.), Ghata (J.) & Lewin (J.). — Etudes sur le coma diabétique. Modifications des protéines, lipoprotéines et glycoprotéines au cours de l'acidocétose diabétique. *Presse méd.*, 1958, **66**, 995-998.

46. Baker (S. P.). — Heparin-activated clearing factor. Standardized test, agewise application, and clinical observations. *Circulation*, 1957, **15**, 889-896.

47. Baker (S.P.), Foa (P. P.), Turner (L.) & Dubin (A.). — Effect of common bile duct ligation on lipoprotein lipase response in dogs. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1959, **101**, 464-466.

48. Bassett (D. R.) & Kuo (T.). — Intestinal absorption in idiopathic hyperlipemia. *Circulation*, 1961, **24**, 882.

49. Beaton (J. R.), Szlavko (A. J.), Box (B. M.) & Stevenson (J. A. F.) — Biological effects of anorexigenic and fat-mobilizing substances from rat urine. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1964, **42**, 657.

50. Beaton (J. R.), Szlavko (A. J.) & Stevenson (J. A. F.). — Extraction and chemical characteristics of anorexigenic and fat-mobilizing substances from rat urine. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1964, **42**, 647-656.

51. Beaton (J. R.), Szlavko (A. J.) & Stevenson (J. A. F.). — Factors influencing the excretion of a fat-mobilizing substance in the urine of rats. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1966, **44**, 95-101.

52. Beaton (J. R.), Szlavko (A. J.) & Stevenson (J. A. F.). — Purification by ultrafiltration of a fat-mobilizing substance extracted from the urine of fasting rats. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1966, **44**, 701-709.

53. Beaumont (J.-L.), Jacotot (B.) & Beaumont (V.). — L'hyperlipidémie par auto-anticorps. Une cause d'athérosclérose. *Presse méd.*, 1967, **75**, 2315-2320.

54. Beischer (D. E.). — Electron microscopy of human plasma

lipoprotein separated by ultracentrifugation. *Circulat. Research,* 1954, **2**, 164-168.

55. Bénard (D.) & Gajdos (A.). — Activité métabolique du rein et son rôle dans l'excrétion urinaire, 1 vol. (Masson et Cie, édit.), Paris, 1954.
56. Bianchini (P.). — Azione del triton sul sistema del « clearing factor ». *Boll. Soc. ital. Biol. sper.,* 1960, **36**, 273-277.
57. Biedermann (W.). — Ueber Wesen und Bedeutung der Protoplasmalipoïde. *Pflügers Arch. ges. Physiol.,* 1924, **202**, 213.
58. Biserte (G.), Tayeau (F.), Montreuil (J.), Holleman (J.) & Dautrevaux (M.). — Etude chimique de la mucoprotéine, responsable du phénomène d'obstacle de Donaggio. *Clin. chim. Acta,* 1956, **1**, 115-121. (Voir aussi [404, 405].)
59. Blix (G.). — Studies on diabetic lipemia. *Acta med. scand.,* 1926, **64**, 234-259. (Voir aussi [63, 347].)
60. Blix (G.), Tiselius (A.) & Svenson (H.). — Lipids and polysaccharides in electrophoretically separated blood serum proteins. *J. biol. Chem.,* 1941, **137**, 485-495.
61. Block (W. J.), Barker (N. N.) & Mann (F. D.). — Effect of small doses of heparin in increasing the translucence of plasma during alimentary lipemia. *Circulation,* 1951, **4**, 674.
62. Block (W. J.), Mann (F. D.) & Barker (N. W.). — Effect of small doses of heparin in increasing the translucence of plasma during alimentary lipemia: studies in normal individuals and patients with atherosclerosis. *Proc. Staff Meetings Mayo Clinic,* 1951, **26**, 246-249. (Voir aussi [61, 443].)
63. Bloor (W. R.). — The lipoids (fat) the blood in diabetes. *J. biol. Chem.,* 1926, **26**, 417.
64. Boberg (J.) & Carlson (L. A.). — Determination of heparin-induced lipoprotein lipase activity in human plasma. *Clin. chim. Acta,* 1964, **10**, 420-427.
65. Boberg (J.), Carlson (L. A.) & Normell (L.). — Production of lipolytic activity by the isolated perfused dog liver in response to heparin. *Biochem. J.,* 1964, **92**, 43 P.
66. Bourdillon (J.). — Osmotic pressure study of protein fractions in normal and nephrotic subjects. *J. exp. Med.,* 1939, **69**, 819-831.
67. Bourillon (R.), Cornillot (P.) & Got (R.). — Les glycoprotéines de l'urine humaine normale. IV. Fractionnement et caractérisation des glycopeptides urinaires. *Clin. chim. Acta,* 1962, **7**, 506-514.
68. Bourillon (R.), Got (R.) & Cornillot (P.). — Les glycoprotéines de l'urine humaine normale. III. Résolution par

chromatographie sur DEAE-cellulose des glycoprotéines solubles dans l'éthanol à 50 %. *Clin. chim. Acta,* 1961, **6**, 730-736.

69. Bourillon (R.), Got (R.) & Michon (J.). — Les glycoprotéines de l'urine. II. Etude d'une fraction de l'adialysable soluble dans l'éthanol à 65 %. *Clin. chim. Acta,* 1961, **6**, 91-98.
70. Bourillon (R.) & Kaplan (J.-C.). — Les glycoprotéines de l'urine normale. I. Répartition des constituants glucidiques des glycoprotéines au cours du fractionnement. *Clin. chim. Acta,* 1960, **5**, 732-739.
71. Boyd (E. M.). — The lipid composition of milky blood serum. *Trans. roy. Soc. Can.,* 1937, **31**, 11.
72. Boyle (E.), Bragdon (J. H.) & Brown (R. K.). — Role of heparin in, *in vitro,* production of α_1-lipoprotein in human plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1952, **81**, 475-477.
73. Bragdon (J. H.) & Havel (R. J.). — In vivo effect of antiheparin agents on serum lipids and lipoproteins. *Amer. J. Physiol.,* 1954, **177**, 128-133.
74. Bragdon (J. H.) & Havel (R. J.). — Heparin-like activity of certain inorganic anions. *Science,* 1954, **120**, 113-114.
75. Bragdon (J. H.), Havel (R. J.) & Gordon (R. S. Jr.). — Effets of carbohydrate feeding on serum lipids and lipoproteins in the rat. *Amer. J. Physiol.,* 1957, **189**, 63-67.
76. Brignon (J.-J.) & Wolff (R.). — Recherches sur la production de facteur clarifiant par les polyphosphates alcalins en injection intraveineuse. *Bull. Soc. chim. biol.,* 1958, **40**, 1567-1577.
77. Brown (W. D.). — Reversible effets of anticoagulants and protamine on alimentary lipemia. *Quart. J. exp. Physiol.,* 1952, **37**, 75-84.
78. Brown (W. D.). — Effects of heparin and protamin on alimentary lipœmia in rats. *Acta physiol. scand.,* 1954, **30**, 324-334.
79. Brown (R. K.), Boyle (E.) & Anfinsen (C. B.). — Purification and properties of lipemia « clearing factor ». *Fred. Proc.,* 1952, **11**, 18.
80. Brown (R. K.), Boyle (E.) & Anfinsen (C. B.). — The enzymatic transformation of lipoproteins. *J. biol. Chem.,* 1953, **204**, 423-434.
81. Brown (R. K.), Davis (R. E.), Clark (B.) & Van Vunakis (H.). — Chemical studies of the protein portion of human lipoprotein. *In* « III[rd] Int. Conf. Biochem. Problems Lipids », 1 vol. (Paleis der Academien, édit.), Brussels, 1956, 104-112.
82. Burstein (M.). — Les lipoprotéines du plasma humain. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.,* 1961, **17**, 92-110.

83. Byers (S. O.), Friedman (M.) & Rosenman (R. H.). — Hepatic synthesis of cholesterol in nephrotic rats. *Amer. J. Physiol.*, 1954, **178**, 327-330.

84. Canivet (J.) & Mantel (O.). — Hyperlipidémies secondaires. *Rev. Prat.*, 1965, **15**, 4061-4067.

85. Cantone (A.). — *Boll. Soc. ital. Patol.*, 1955, **4**, 129. Cité par Tayeau & coll. [24].

86. Cantone (A.). — Confronto tra il meccanismo della chiarificazione da eparina e quella da aminopolisaccaridi acidi presenti nell' estratto da mucosa gastrica di maiale. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1955, **31**, 1075-1078. (Voir également [88, 93, 94, 90, 92].)

87. Cantone (A.). — Studio comparativo dell' azione inibente del solfato di protamina sulla chiarificazione da eparina e da preparato mucinico gastrico. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1956, **32**, 75-77.

88. Cantone (A.). — Sull' effetto chiarificante del plasma a seguito della somministrazione combinata di eparina sodica e di preparato mucinico gastrico. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1956, **32**, 286-288.

89. Cantone (A.). — Richerche in vitro su varie sostanze ad attività chiarificante. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1956, **32**, 404-406.

90. Cantone (A.). — Confronto del rapporto chiarificazione - dose, tra l'eparina sodica e altri aminopolisaccaridi acidi. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1957, **32**, 1505-1507.

91. Cantone (A.) & Capraro (V.) — Estrazione del fattore chiarificante dal cuore di coniglio isolato e perfuso. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 105-108.

92. Cantone (A.) & Cresseri (A.). — Azione chiarificante di una frazione acida delle mucine del succo gastrico umano. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1957, **33**, 1423-1425.

93. Cantone (A.), Cresseri (A.) & Piccinini (F.). — Azione antilipemica ed antisteatosi epatica alimentare di un preparato mucinino da mucosa gastrica di maiale e di una frazione aminopolisaccarida acida da esso isolata. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1956, **32**, 69-72.

94. Capraro (V.), Cantone (A.) & Cresseri (A.). — Ueber die Anwesenheit einen resorbierbaren, mit « clearing » Vermögen versehenen Substanz im normalen Magensaft. *Naturwissenschaften*, 1956, **43**, 36-37.

95. Careddu (P.) & Cabassa (N.). — Lipoprotein lipase activity in the nephrosic syndrome. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 1061-1063. D'après *C.A.*, 1961, **55**, 14684 i.

96. Carlson (L. A.) & Olhagen (B.). — The electrophoretic mobility of chylomicrons in a case of essential hyperlipemia. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1954, **6**, 70-73.

97. Carlson (L. A.) & Waldström (L. B.). — On the occurence of tri-, di-, and monoglycerides in human serum. *In :* « III[rd] Int. Conf. Biochem. Problems Lipids », 1 vol. (Paleis der Academien, édit.), Brussels, 1956, 123-135.

98. Carlson (L. A.) & Waldström (L. B.) — Studies on the glycerides during the clearing reaction *Clin. chim. Acta,* 1957, **2**, 9-15.

99. Chalmers (T. M.), Kekwick (A.) & Pawan (G. L. S.). — On the fat-mobilising activity of human urine. *Lancet,* 1958, **1**, 866-869.

100. Chalmers (T. M.), Pawan (G. L. S.) & Kekwick (A.). — Fat-mobilizing activity of human urine extract. *Amer. J. clin. Nutr.,* 1960, **8**, 728-732.

101. Chauveau (J.) & Frayssinet (C.). — Note sur l'activité antilipémique de l'héparine dégradée en milieu alcalin. *In* « III[rd] Int. Conf. biochem. Problems Lipids », 1 vol. (Palais der Academien, édit.), Brussels, 1956, 185-189. (Voir également [199].)

102. Cherkes (A.) & Gordon (R. S.). — The liberation of lipoprotein lipase by heparin from adispose tissue incubated in vitro. *J. Lipid. Res.,* 1959, **1**, 97-101.

103. Chevallier (F.) & Phillipot (J.). — Destinée du cholestérol des chylomicrons chez le Rat. II. Mouvements du cholestérol 4-^{14}C de chylomicrons introduits *in vitro* dans du sérum. *Bull. Soc. Chim. biol.,* 1962, **44**, 809-822.

104. Ciaccio (C.). — I lipoidi considerati come costituenti esseziali della cellula (istolipoidi). II. Distribuzione degle esto lipoïdi nei costituente morfologici della cellula. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.,* 1926, **1**, 144-147.

105. Condon (R. E.), Tobias (H.) & Datta (D. V.). — The liver and postheparin plasma lipolytic activity in Dog and Man. *J. clin. Invest.,* 1965, **44**, 860-869.

106. Confortini (P.), Galanti (G.) & Curri (S. B.). — Modalita d'azione dell' acido jaluronico e dell' eparina sul « clearing factor » e sulla coagulazione del sangue. *Arch. Stud. Fisiopatol. Ricambio,* 1958, **22**, 1-6.

107. Connor (W. E.) & Eckstein (J. W.). — The removal of lipoprotein lipase from the blood by the normal and diseased liver. *J. clin. Invest.,* 1959, **38**, 1746-1755.

108. Constantinides (P.), Cairns (A.) & Werner (A.). — Antilipemic activity of sulfated polysaccharides. *Arch. int. Pharmacodyn.,* 1954, **99**, 334-345.

109. Constantinides (P.), So (Y.) & Johnston (F. C. R.). — Role of liver and kidney in development of heparin-induced lipemia clearing activity (L.C.A.). *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1959, **100**, 262-264.

110. Cresseri (A.) & Capraro (V.). — Variazioni del contenuto di fattore chiarificante nel cuore di ratto dopo somministrazione di eparina. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 254-256.

111. Crook (E. M.). — The Nagler reaction : the breakdown of lipoprotein complexes by bacterial toxins. *Brit. J. exp. Path.*, 1942, **23**, 37-55.

112. Cseh (G.) & Szabó (I. K). — Significance of the chemical structure of polysaccharides in the activation of lipoprotein lipase. *Acta physiol. Acad. Sci. hungar.*, 1964, **25**, 117-124.

113. Datta (D. V.). — Post-heparin plasma lipoprotein-lipase levels in cirrhosis of the liver. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1963, **112**, 1006-1008. (Voir aussi [114, 115, 116].)

114. Datta (D. V.). — Postheparin plasma « lipoprotein lipase » activity in cirrhosis of the liver. Thèse Ph. D. Med., Londres, 1964.

115. Datta (D. V.). — Removal of postheparin plasma « lipoprotein lipase », by the normal and diseased liver. *Gastroenterology*, 1965, **49**, 515-520.

116. Datta (D. V.). — The mechanism of low postheparin plasma lipolytic activity (P.H.L.A.) in patients with cirrhosis of the liver. *J. Lab. clin. Med.*, 1966, **67**, 461-472.

117. Davis (H. L.). — Colloïdal aspects of blood lipids. *In* « III[rd] int. Conf. Biochem. Problems Lipids », 1 vol. (Paleis der Academien, édit.), Brussels, 1956, 81-90.

118. Day (A. J.) & Peters (J. A.). — The effect of uranium acetate on heparin induced lipemia clearing. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.*, 1958, **36**, 39-48.

119. Day (A. J.), Schwartz (C J.) & Peters (J. A.). — Serum lipid responses to heparin and to protamin in rabbits. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.*, 1957, **35**, 457-466.

120. Day (A. J.) & Wilkinson (G. M.). — Clearing factor inhibitor in human atherosclerosis. *Circulation*, 1958, **18**, 76-81.

121. Delsal (J.-L.). — Nouveau procédé d'extraction des lipides du sérum par le méthylal. Applications aux microdosages du cholestérol total, des phosphoaminolipides et des protéides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 99-105.

122. Dervichian (D. G.). — Structural aspects of lipo-protein association. *Disc. Faraday Soc.*, 1949, **6**, 7-15.

123. Dumont (A. E.). — Comparison of heparin induced lipid clearing activity in human thoracic duct lymph and plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1960, **104**, 123-125.

124. Duncan (C. H.), Best (M. M.) & Mac Gaff (C.). — Clearing system for blood fats. Stimulation by a heparinoïd. *Lancet*, 1959, **1**, 1014-1016.

125. Dury (A.). — Effect of reserpine on lipoprotéine lipase activity of rat heart. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1961, **107**, 299-302.

126. Eder (H. A.), Russ (E. M.), Pritchett (R. A. R.), Wilber (M. M.) & Barr (D. P.). — Protein-lipid relationships in human plasma: in biliary cirrhosis, obstructive jaundice and acute hepatitis. *J. clin. Invest.*, 1955, **34**, 1147-1162.

127. Edgren (B.). — The production of lipœmia-clearing activity in dog plasma after intravenous injection of soya bean phosphatides. *Acta pharmacol.*, 1960, **16**, 270-281.

128. Edgren (B.). — The lipolytic activity in dog plasma after intravenous fat emulsion. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1960, **126**, 255-270.

129. Eiber (H. B.) & Danishefsky (I.). — Clearance of injected heparin from the blood. *Nature*, 1957, **180**, 1359-1360.

130. Elkes (J. J.) & Frazer (A. C.). — The relationship of phospholipin to the absorption of unhydrolysed fat from the intestine. *J. Physiol. (Lond.)*, 1943, **102**, 24 P - 25 P.

131. Elkes (J. J.), Frazer (A. C.) & Stewart (H. C.). — Composition of particles seen in normal human blood under dark ground illumination. *J. Physiol.*, 1939, **95**, 68-82.

132. Engelberg (H.). — Correlation of plasma heparin levels with serum lipoproteins. *Acta med. scand.*, 1955, **151**, 161-166.

133. Engelberg (H.). — Human endogenous lipemia clearing factor (active factor). *Amer. J. Physiol.*, 1955, **181**, 309-312.

134. Engelberg (H.). — Studies of circulating human endogenous lipoprotein lipase. *In* : III[rd] Int. Conf. Biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, édit.), Brussels, 1956, 367-378.

135. Engelberg (H.). — Human endogenous lipemia clearing activity. Studies of lipolysis and effects of inhibitors. *J. biol. Chem.*, 1956, **222**, 600-610.

136. Engelberg (H.). — Studies of circulating human endogenous lipoprotein lipase: heparin lipemia clearing factor. *Circulation*, 1956, **14**, 498.

137. Engelberg (H.). — Human endogenous plasma lipemia clearing and lipolytic activity after tricalcium phosphate adsorption. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1957, **95**, 394-397.

138. Engelberg (H.). — In vitro studies of human plasma lipolytic activity before and after oral fat intake. *J. appl. Physiol.*, 1957, **11**, 155-160.

139. Engelberg (H.). — In vitro studies of the lipolysis of postalimentary lipemia in man. *Metabolism*, 1958, **7**, 172-178.

140. Engelberg (H.). — Human endogenous plasma lipemia clearing activity after intravenous fat emulsions (lipomul). *J. appl. Physiol.*, 1958, **12**, 292-296.

141. Engelberg (H.). — Human plasma heparin levels and lipemia clearing activity after ingestion of animal and vegetable fat. *J. appl. Physiol.*, 1958, **13**, 296-298.

142. Engelberg (H.). — Human endogenous plasma lipemia clearing activity. Observations in 482 individuals. *J. appl. Physiol.*, 1958, **13**, 375-380.

143. Engelberg (H.). — Plasma heparin levels in man following intravenous fat emulsions. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1958, **97**, 304-308.

144. Engelberg (H.). — Studies indicating inactivation of post-heparin and endogenous human plasma lipoprotein-lipase during triglyceride lipolysis. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1958, **99**, 489-493.

145. Engelberg (H.). — Studies of fat lipolysis by post-heparin human plasma lipoprotein-lipase and by human pancreatic lipase. *Circulation*, 1959, **19**, 884-890.

146. Engelberg (H.). — Absence of lipemia clearing factor lipase in human adipose tissue. *J. Lipid. Res.*, 1961, **2**, 169-171. (Voir également [216].)

147. Engelberg (H.). — Incidence of endogenous lipoprotein lipase activity in human plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1964, **116**, 422-425.

148. Etienne (J.) & Polonowski (J.). — Evolution des lipides au cours de l'incubation du sérum. III. Etude des phospholipides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1960, **42**, 857-866.

149. Fasoli (A.), Glassman (M. D.), Magid (E. B.) & Foa (P. P.). — Serum lipoproteins in experimental diabetes. Action of heparin in vivo on lipoproteins of depancreatized dogs. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1954, **86**, 298-301.

150. Fasoli (A.), Salteri (F.), Spina (G.) & Ratti (G.). — Ultracentrifugal, electrophoretic and chemical changes produced in serum and artificial lipid emulsions by human « clearing factor ». *In:* III[rd] Int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Akademien, edit.), Brussels, 1956, 278-289.

151. Feinschmidt (J.). — *Biochem. Z.*, 1912, **38**, 244. Cité par Tayeau (F.), dans : III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 35.

152. Fekete (L. L.), Lever (W. F.) & Klein (E.). — Inhibition of lipemia clearing activity by human white blood cell and platelet components. *J. Lab. clin. Med.*, 1958, **52**, 680-686.

153. Felt (V.) & Reichl (D.). — Effect of heparin and a protamine sulfate on alimentary lipemia. *Cas. Lek ces.*, 1957, **96**, 954. (Voir aussi [226].)

154. Felt (V.) & Reichl (D.). — A note on heparin clearing in vivo. *Lancet*, 1957, **272**, 664-665.

155. Fiessinger (N.) & Gothié (S.). — L'anémie plasmatique expérimentale. *Sang*, 1934, **8**, 1-27.

156. Fishberg (E. H.). — The relations of the serum proteins and lipids to the osmotic pressure. *J. biol. Chem.*, 1929, **81**, 205-214.

157. Fishberg (E. H.) & Fishberg (A. M.). — The mechanism of the lipemia of bleeding. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1927, **25**, 296.

158. Fraser (J. R. E.), Lovell (R. R. H.) & Nestel (P. J.). — The production of lipolytic activity in the human forearm in response to heparin. *Clin. Sci.*, 1961, **20**, 351-356.

159. Frayssinet (C.) & May (P.). — Action du facteur clarifiant sur un plasma lipémique, déplacement d'acides gras. *In :* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 180-183.

160. Frazer (A. C.) & Stewart (H. C.). — Ultramicroscopic particles in normal human blood. *J. Physiol.*, 1937, **90**, 18-29. (Voir également [131, 273].)

161. Fredrickson (D. S.). — Tangier disease. *Ann. intern. Med.*, 1961, **55**, 1016-1031.

162. Fredrickson (D. S.), Ono (K.) & Davis (L. L.). — Lipolytic activity of postheparin plasma in hyperglyceridemia. *J. Lipid. Res.*, 1963, **4**, 24-33.

163. Freeman (N. K.), Engelberg (H.) & Dudley (A.). — A method for the determination of plasma heparin based on anticoagulant activity. *Amer. J. clin. Path.*, 1954, **24**, 599.

164. French (J. E.) & Morris (B.). — The removal of ^{14}C-labelled chylomicron fat from the circulation in rats. *J. Physiol.*, 1957, **138**, 326-339.

165. French (J. E.) & Morris (B.). — The tissue distribution and oxidation of ^{14}C-labelled chylomicron fat injected intravenously in rats. *J. Physiol.*, 1958, **140**, 262-271. (Voir aussi [166].)

166. French (J. E.), Morris (B.) & Robinson (D. S.). — Removal of lipids from the blood stream. *Brit. med. Bull.*, 1958, **14**, 234-238.

167. French (J. E.), Robinson (D. S.) & Harris (P. M.). — The role of cholesterol in the interaction of chyle and plasma. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1955, **40**, 320-330.

168. Gardikas (C.), Thomopoulos (D.), Arapakis (G.) & Nassi (H.). — Inhibition of lipolytic activity by platelets. *Acta haemat.*, 1960, **24**, 274-280.

169. Gennes (J.-L. de), Hamburger (J.) & Pequignot (H.). — Comment explorer et interpréter une hyperlipémie. *Presse méd.*, 1966, **74**, 261-265.

170. Gennes (J.-L. de) & Laudat (P.) .— Recherches sur l'action

in vivo du sulfate de protamine sur le sérum humain. *Clin. chim. Acta,* 1959, **4**, 231-241.

171. Gerö (S.), Perényi (L.), Jakab (M.) & Gacs (J.). — Ueber den Mechanismus der Protaminversibilität des Clearing-effektes des Heparins. *Klin. Wschr.,* 1957, **35**, 939-940.
172. Gerö (S.), Perényi (L.), Jakab (M.) & Gacs (J.). — Mécanisme d'action de la protamine sur la réversibilité de l'effet clarifiant de l'héparine. *C.R. Soc. Biol.,* 1957, **151**, 1323-1326.
173. Getz (G. S.) & Bloomberg (B. M.). — The effect of fasting normal serum on heparin-induced clearing reaction. *S. Afr. J. med. Sci.,* 1956, **21**, 144-145. (Voir aussi [174].)
174. Getz (G. S.) & Bloomberg (B. M.). — The effect of fasting normal serum on heparin induced clearing reaction. *S. Afr. J. med. Sci.,* 1957, **22**, 129-136.
175. Goldberg (E.), Brignon (J. J.) & Wolff (R.). — Recherches sur le dosage du « facteur clarifiant » dans le plasma humain. *C.R. Soc. Biol.,* 1957, **150**, 1977-1980.
176. Gordon (R. S. Jr.). — Interaction between oleate and the lipoproteins of human serum. *J. clin. Invest.,* 1955, **34**, 477-484.
177. Gordon (R. S. Jr.), Boyle (E.), Brown (R. K.), Cherkes (A.) & Anfinsen (C. B.). — Role of serum albumin in lipemia clearing reaction. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1953, **84**, 168-170.
178. Gore (I.) & Larkey (B. J.). — Functional activity of aortic mucopolysaccharides. *J. Lab. clin. Med.,* 1960, **56**, 839-846.
179. Gornall (A. G.), Bardawill (C. J.) & David (M. M.). — Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem.,* 1949, **177**, 751-766.
180. Gould (R. G.). — Lipid metabolism and atherosclerosis. *Amer. J. med.,* 1951, **11**, 209.
181. Graham (D. M.), Lyon (T. P.), Gofman (J. W.), Jones (H. R.), Yankley (A.), Simonton (J.) & White (S.). — Blood lipids and human atherosclerosis. II. The influence of heparin upon lipoprotein metabolism. *Circulation,* 1951, **4**, 666-673.
182. Grossmann (M. I.). — The quantitative measurement of heparin induced lipemia clearing activity of plasma. *J. Lab. clin. Med.,* 1954, **43**, 445-451. (Voir aussi [64, 212, 240, 241, 242, 276, 277, 278, 287, 299, 303, 304, 356, 386, 439, 441].)
183. Grossmann (M. I.), Moeller (H. C.) & Palm (L.). — Effect of lipemia and heparin on free fatty acid concentration of serum in humans. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1955, **90**, 106-109.
184. Grossmann (M. I.), Palm (L.), Becker (G. H.) & Moeller (H. C.). — Effect of lipemia and heparin on free fatty

acid content of rat plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1954, **87**, 312-315.

185. Grossmann (M. I.), Stadler (J.), Cushing (A.) & Palm (L.). — The relation between lipolysis and deturbidification et returbidification in the heparin-induced lipemia clearing phenomenon. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1955, **88**, 132-135.
186. Guarini (G.). — Azione dell' eparina sull' iperlipemia da carico orale di grasso. I. Influenza dell' eparina sui grassi neutri, sui fosfolipidi, sugli esteri colesterolici e sugli acidi grassi liberi e totali. *Med sper.,* 1957, **31**, 309-317.
187. Hahn (P. F.). — Abolishment of alimentary lipemia following injection of heparin. *Science,* 1943, **98**, 19-20.
188. Havel (R. J.). — Evidence for the participation of lipoprotein lipase in the transport of chylomicrons. *In:* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 265-272.
189. Havel (R. J.). — Transport and metabolism of chylomicra. *Amer. J. clin. Nutr.,* 1958, **6**, 662-668.
190. Havel (R. J.) & Bragdon (J. H.). — Heparin-like activity of polymetaphosphate. *Circulation,* 1954, **10**, 591.
191. Havel (R. J.) & Gordon (R. S.). — Idiopathic hyperlipemia: metabolic studies in an affected family. *J. clin. Invest.,* 1960, **39**, 1777-1790.
192. Havel (R. J.) & Petterson (M.). — Lipoprotein lipase in blood plasma of men with coronary heart disease (abstract). *Circulation,* 1958, **18**, 496.
193. Herbs (F. S. M.), Lever (W. F.), Lyons (M. E.) & Hurley (N. A.). — Effects of heparin on the lipoproteins in hyperlipemia. An electrophoretic study of the serum alpha and beta lipoproteins after their separation by fractionation of the plasma proteins or ultracentrifugal flotation. *J. clin. Invest.,* 1955, **34**, 581-589. (Voir aussi [433, 281, 436.])
194. Hollenberg (C. H.). — The effect of fasting on the lipoprotein lipase activity of rat heart and diaphragm. *J. clin. Invest.,* 1960, **39**, 1282-1287.
195. Hollett (C.) & Meng (H. C.). — Purification et characterization of a lipœmia clearing factor inhibitor from normal plasma. *In:* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 190-198.
196. Hollett (C.) & Meng (H. C.). — Purification and characterization of the lipemia clearing factor of post-heparin plasma. *Biochim. biophys. Acta,* 1956, **20**, 421-422.
197. Hood (B.), Angerwall (G.), Isaksson (B.) & Welin (G.). — Studies on heparin and the lipemia clearing factor (I). *Scand. J. clin. Lab. Invest.,* 1954, **6**, 1-7.

198. Hoppe-Seyler (F.). — *Handb. phys. Chem.*, 1870, **3**, 196.
199. Houck (J. C.), Morris (R. K.) & Lazaro (E. J.). — Anticoagulant, lipemia clearing and other effects of anionic polysaccharides extracted from seaweed. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1957, **96**, 528-530.
200. Inderbitzin (T.). — Experimentelle Untersuchungen zur Frage der antilipämischen Wirkung von Heparin. *Schweiz. med. Wschr.*, 1954, **84**, 1150-1154.
201. Isselbacher (K. J.) & Budz (D. M.). — Synthesis of lipoproteins by rat intestinal mucosa. *Nature*, 1963, **200**, 364-365.
202. Isselbacher (K. J.), Scheig (R.), Plotkin (G. R.) & Caulfield (J. B.). — Congenital β-lipoprotein deficiency: an hereditary disorder involving a defect in the absorption and transport of lipids. *Medicine*, 1964, **43**, 347-361.
203. Ivaldi (G.), Arrigo (L.) & Macri (I.). — Effect of heparin on the lipide components of plasma. I. Behavior of the esters of fatty acids. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 885-887. D'après *C.A.*, 1961, **55**, 14718 a.
204. Ivaldi (G.) & Rossi (O.). — Effect of heparin on the lipide components of plasma. III. Behavior of total and esterified cholesterol and of fatty acid esters of the plasma of the rabbit maintened on a hypercholesterol diet. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 1765-1769. D'après *C.A.*, 1961, **55**, 14718 c.
205. Jakovcic (S.) & Hsia (D. Y.). — Studies on mechanism for decreased lipoproteine lipase in cystic fibrosis of the pancreas. *J. Pediat.*, 1963, **62**, 25.
206. Jeffries (G. H.). — The effect of fat absorption on the interaction of chyle and plasma in the rat. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1954, **39**, 77-81.
207. Jobst (H.) & Schettler (G.). — Ueber die chemische Zusammensetzung der Chylomikronen. *In:* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Akademien, edit.), Brussels, 1956, 136-147.
208. Joslin (E. P.), Bloor (W. R.) & Gray (H.). — The lipoids in diabetics. *J. Amer. med. Ass.*, 1917, **69**, 375.
209. Jover (A.). — A technique for the determination of serum glycerides. *J. Lipid. Res.*, 1963, **4**, 228-230.
210. Kadas (L. von) & Nagy (D.). — Untersuchungen über direkt wirkende Lipoidmobilisatoren des Organismus. III. Ueber den im Urin erscheinenden lipoidmobilisierenden Faktor. *Endokrinologie*, 1965, **48**, 14-19.
211. Kahlke (W. von). — Differenzierung der essentiellen familiären Hyperlipoproteinämien (Hyperlipidämien). *Dtsch. med. Wschr.*, 1966, **91**, 26-29.
212. Kern (F. Jr.), Steinmann (L.) & Sanders (B. B.). — Measure-

ment of lipoprotein lipase activity in post heparin plasma: description of technique. *J. Lipid. Res.*, 1961, **2**, 51-57.

213. Kessler (J. I.), Kniffen (J. C.) & Janowitz (H. D.). — Lipoprotein lipase inhibition in the hyperlipemia of acute alcoholic pancreatitis. *New Engl. J. Med.*, 1963, **269**, 943-948.
214. Klein (E.) & Lever (W. F.). — Inhibition of lipemia clearing activity by serum of patients with hyperlipemia. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1957, **95**, 565-567. (Voir aussi [162, 217, 228, 349, 351].)
215. Klein (E.), Lever (W. F.) & Fekete (L. L.). — Inhibition of lipemia clearing activity by tissue extracts. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1958, **98**, 658-660.
216. Klein (E.), Lever (W. F.) & Fekete (L. L.). — Inhibitors of lipemia clearing in tissues. *J. invest. Derm.*, 1958, **30**, 41-42.
217. Klein (E.), Lever (W. F.) & Fekete (L. L.). — Defective lipemia clearing response to heparin in idiopathic hyperlipemia. *J. invest. Derm.*, 1959, **33**, 91-97.
218. Koppel (J. L.), Novak (L. V.) & Olwin (J. H.). — Associations an inhibitor with deficiency of plasma-clearing activity. *J. appl. Physiol.*, 1961, **16**, 115-118.
219. Korn (E. D.). — Properties of clearing factor obtained from rat heart acetone powder. *Science*, 1954, **120**, 399-400. (Voir également [91, 110, 194, 125, 294].)
220. Korn (E. D.). — Clearing factor, a heparin activated lipoprotein lipase. I. Isolation and characterization of the enzyme from normal rat heart. *J. biol. Chem.*, 1955, **215**, 1-14.
221. Korn (E. D.). — Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. II. Substrate specificity and activation of coconut oil. *J. biol. Chem.*, 1955, **215**, 15-26.
222. Korn (E. D.). — Inactivation of lipoproteine-lipase by heparinase. *J. biol. Chem.*, 1957, **226**, 827-832.
223. Korn (E. D.). — The fatty acid and positional specificities of lipoprotein lipase. *J. biol. Chem.*, 1961, **236**, 1638-1642.
224. Korn (E. D.) & Quigley (T. W. Jr.). — Studies on lipoprotein lipase of rat heart and adipose tissue. *Biochim. biophys. Acta*, 1955, **18**, 143-145.
225. Korn (E. D.) & Quigley (T. W. Jr.). — Lipoprotein lipase of chicken adipose tissue. *J. biol. Chem.*, 1957, **226**, 833-839.
226. Kubie (G.), Reichl (D.) & Felt (V.). — Blood changes in heparin clearing (a polarographic investigation). *In:* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 291-297.

227. Kunkel (H. G.) & Ahrens (E. H. Jr.). — The relation between serum lipides and the electrophoretic pattern, with particular reference to patients with primary biliary cirrhosis. *J. clin. Invest.*, 1949, **28**, 1575-1579.

228. Kuo (P. T.), Bassett (D. R.), Digeorge (A. M.) & Carpentier (G. G.). — Lipolytic activity of post-heparin plasma in hyperlipemia and hypolipemia *Circul. Res.*, 1965, **16**, 221-229.

229. Laborit (H.), Delga (J.), Baylon (H.), Hugonot (R.) & Dechen (J.). — La thérapeutique « Héparine-Lipocaïc » par administration sub-linguale. *Presse méd.*, 1954, **62**, 79-81.

230. Lalla (O. F. de) & Gofman (J. W.). — Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins. *In:* Methods of Biochemical Analysis ; Glick (Interscience, edit.), New York, 1954, 459-478.

231. Landolt (R.) & Astwood (E. B.). — Fat mobilization and hyperlipemia from pituitary extracts in rabbits. *Amer. J. Physiol.*, 1961, **200**, 841-846.

232. Larcan (A.), Wolff (J.) & Wolff (R.). — Recherches sur la lipoprotéine-lipase et le facteur inhibiteur dans le syndrome néphrotique. *Sem. Hôp. Paris, Path.-Biol.*, 1962, **10**, 417-423.

233. Laudat (P.) & Gennes (J.-L. de). — Recherches complémentaires concernant l'action du sulfate de protamine sur le sérum *in vitro*. *C.R. Acad. Sci.*, 1957, **244**, 3186-3188.

234. Laurell (C. B.). — Composition of chylomicrons isolated from rat's lymph. *Acta Physiol. scand.*, 1954, **30**, 289-294. (Voir également [327, 207].)

235. Laurell (C. B.). — The serum lipoproteins in slight malnutrition. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1955, **7**, 257-258.

236. Le Breton (E.), Frayssinet (C.) & May (P.). — Phénomènes de clarification et de lipolyse d'un plasma lipémique par le plasma de rat hépariné. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.*, 1957, **13**, 229-238.

237. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — Récentes acquisitions sur la lécithase et la cholestérolase sérique et pancréatique. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1947, **7**, 111-132.

238. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — Cholestérolestérase et lécithase du plasma sanguin. Leur action couplée. *Arch. Sci. physiol.*, 1947, **1**, 63-79.

239. Leibetseder (J.) & Sagmeister (F.). — Quantitative Klärfaktorstudien am Meerschweinchen (Blut, Herz, Lunge, Leber) nach Hitzestress. *Z. Tierphysiol. Tierernaehr. Futtermittelk*, 1961, **16**, 133-144. (Voir également [243, 65, 105].)

240. Lemaire (A.) & Loeper (J.). — Etude de la clarification par l'héparine. *Sem. Hôp. Paris* (*Path.-Biol.*), 1962, **10**, 101-105.

241. Lemarchands (H.), Paramelle (B.) & Savier (A.). — Le pouvoir clarifiant du plasma. Nouvelles données physiologiques. *Path.-Biol.*, 1961, **9**, 1491-1495.

242. Lemarchands (H.), Paramelle (B.) & Savier (A.). — Aspect de la cinétique enzymatique du facteur clarifiant. *In:* « Enzymes of Lipid Metabolism » (Pergamon-Press, édit.), Paris, 1961, 213-217.

243. Lequire (V. S.), Hamilton (R. L.), Adams (R.) & Merrill (J. M.). — Lipase activity in blood from the hepatic and peripheral vascular beds following heparin. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1963, **114**, 104-107.

244. Lever (W. F.) & Klein (E.). — The inhibition of lipemia clearing by hyperlipemic serum. *J. invest. Derm.*, 1957, **29**, 465.469.

245. Lever (W. F.), Smith (P. A. Jr.) & Hurley (N. A.). — Effects of intravenous heparin on the plasma lipoproteins in primary hypercholesteremic xanthomatosis and idiopathic hyperlipemia. *Science*, 1953, **118**, 653-654. (Voir aussi [150, 444, 382, 1, 366].)

246. Lever (W. F.), Smith (P. A. Jr.) & Hurley (N. A.). — Idiopathic hyperlipemic and primary hypercholesteremic xanthomatosis. III. Effects of intravenously administred heparin on the plasma proteins and lipids. *J. invest. Derm.*, 1954, **22**, 71-87.

247. Levy (R. I.) & Fredrickson (D. S.). — Heterogeneity of plasma high density lipoproteins. *J. clin. Invest.*, 1965, **44**, 426-441

248. Levy (B. W.) & Swank (R. L.). — The effects of *in vivo* heparin on plasma esterase activity and lipœmia clearing. *J. Physiol.*, 1954, **123**, 301-314.

249. Levy (B. W.) & Swank (R. L.). — The esteratic and chylolytic properties of post-heparin plasma and their role in lipœmia clearing. *J. Physiol.*, 1955, **127**, 297-317.

250. Liebermann (L.). — Notiz über das chemische Verhalten des Nierenparenchyms. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 1891, **50**, 55.

251. Liebermann (L.). — Neuere Untersuchungen über das Lecithalbumin. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 1893, **54**, 573.

252. Lindgren (F. T.), Freeman (N. K.), Nichols (A. V.) & Gofman (J. W.). — The physical chemistry of lipoprotein transformation. *In:* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 224-240.

253. Lindgren (F. T.), Helliott (H. A.) & Gofman (J. W.). — The ultracentrifugal characterization and isolation of human blood lipids and lipoproteins, with applications to the study of atherosclerosis. *J. Physiol. Colloid. Chem.*, 1951, **55**, 80-93.

254. Lindgren (F. T.), Nichols (A. V.) & Freeman (N. K.). — Physical and chemical composition studies on the lipoproteins of fasting and heparinized human sera. *J. phys. Chem.*, 1955, **59**, 930-938.

255. Loeper (J.) & Housset (P.). — L'athérome expérimental. *Path.-Biol.*, 1959, **7**, 1043-1051.

256. Loeper (M.), Lemaire (A.) & Lesure (A.). — Le pouvoir cholestérolytique du sérum humain normal et pathologique. *C.R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, 101-103.

257. Logemann (W.). — Zur Klärwirkung des Heparins. *Naturwissenchaften*, 1957, **44**, 423-424.

258. London (I. M.), Sabella (G. F.) & Yamasaki (M. M.). — Studies on the metabolism of cholesterol in normal man and in the nephrotic syndrome. *J. clin. Invest.*, 1951, **30**, 657-658.

259. Long (J. H.) & Gephart (F.). — Observations on the stability of lecithin. *J. amer. chem. Soc.*, 1908, **30**, 881-895.

260. Long (J. H.) & Gephart (F.). — On the behaviour of lecithin with bile salts, and the occurence of lecithin in bile. *J. amer. chem. Soc.*, 1908, **30**, 1312-1319.

261. Mac Daniel (R. A.) & Grossman (M. I.). — Paper electrophoretic study of ^{14}C fat emulsion cleared from post-heparin rat plasma. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1955, **89**, 442-443.

262. Mac Farlane (M. G.) & Knight (B. C. J. G.). — The biochemistry of bacterial toxins. I. The lecithinase activity of *Cl. Welchii* toxins. *Biochem. J.*, 1941, **35**, 884-902.

263. Machebœuf (M.). — Recherches sur les lipides, les stérols et les protéides du sérum et du plasma sanguins. Thèse Doct. Sci., Paris, 1928.

264. Machebœuf (M.). — Les lipides et les substances lipoïdiques du sérum et du plasma sanguins. Quelques aperçus sur les lipémies. *Gaz. hebd. Sci. méd. Bordeaux*, 1939, **60**, 430-436.

265. Machebœuf (M.). — Réponse du Professeur Machebœuf à MM. Popjak et Mc Carthy. *Disc. Trans. Faraday*, 1949, 7548.

266. Machebœuf (M.) & Delsal (J. L.). — Sur le dosage de très petites quantités de phosphore dans des matières organiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1943, **25**, 116-120.

267. Machebœuf (M.) & Januszkiewicz (M.). — Etudes sur les cénapses lipido-protéidiques du sérum sanguin. Nature des protéides entrant dans la constitution de ces cénapses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, 694-706.

268. Machebœuf (M.) & Sandor (G.). — Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique (5e mémoire). Etude de l'état physico-chimique et du rôle des lipides plasmatiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 745-757.

269. Machebœuf (M.) & Tayeau (F.). — Sur l'état des lipides et du cholestérol dans le sérum sanguin. Destruction de certaines cénapses lipido-protéidiques et libération de leurs substances lipoïdiques par un savon. *C.R. Acad. Sci.*, 1938, **206**, 860-862.

270. Machebœuf (M.) & Tayeau (F.). — Essais sur la nature des albumines du sérum des malades atteints de néphrose lipoïdique. *C.R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, 478-480.

271. Machebœuf (M.) & Wahl (R.). — Recherches biochimiques sur le sérum des malades atteints de néphrose lipoïdique. *C.R. Acad. Sci.*, 1931, **192**, 1059.

272. Machebœuf (M.) & Wahl (R.). — Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique (1er mémoire). Etude des globulines et des albumines du sérum sanguin et des lipides qui les accompagnent dans leur précipitation. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 486-503.

273. Marder (L.), Becker (G. H.), Maitzel (B.) & Necheles (H.). — Fat absorption and chylomicronemia. *Gastroenterology*, 1952, **20**, 43-59.

274. Margolis (S.) & Langdon (R. G.). — Structural studies on serum β-lipoproteins. *Feder. Proc.*, 1965, **24**, 288.

275. Mauriac (P.). — Les effets de la saignée sur la cholestérinémie du Lapin. *C.R. Soc. Biol.*, 1912, **73**, 675-679.

276. May (P.). — Contribution à l'étude des associations acide gras-albumine. *In:* IIIrd int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 168-171.

277. May (P.). — Une méthode simple pour doser le facteur clarifiant du sang par une mesure de la lipolyse. *C.R. Acad. Sci.*, 1957, **245**, 2551.

278. May (P.). — Méthode de dosage du facteur clarifiant (lipoprotéine lipase) d'un plasma fondée sur une évaluation de la lipolyse. *Rev. franç. Et. clin. biol.*, 1958, **3**, 53-55.

279. Mayer (A.) & Terroine (E.). — Sur les propriétés des précipités d'albumine par l'alcool. Redissolution dans l'alcool en présence d'électrolytes. *C.R. Soc. Biol.*, 1907, **62**, 317-319.

280. Meier (R.) & Schuler (W.). — Wirkung von Polysacchariden bakterieller Herkunft auf die experimentelle Lipämie. *Experientia*, 1957, **13**, 249-250.

281. Mendelsohn (D.), Getz (G. S.) & Bloomberg (B. M.). — A comparison of the heparin clearing reaction and the mobility of the plasma lipoproteins in paper electrophoregrams. *S. Afr. J. Med. Sci.*, 1957, **22**, 154.

282. Meng (H. C.) & Goldfarb (J. L.). — Heparin-induced lipemia clearing factor in rats. Role of the pancreas in its production. *Diabetes*, 1959, **8**, 211-217.

283. Meng (H. C.) & Hadley (J. L.). —The role of pancreas in the production of lipemia clearing factor in rats. XXth int. Physiol. Cong. Abstr., 1956, 637. (Voir aussi [149].)

284. Meng (H. C.), Hollett (C.) & Cole (W. E.). — Some factors affecting the clearing of neutral fat emulsion by post-heparin plasma. *Amer. J. Physiol.*, 1954, **179**, 314-318.

285. Moeller (M. C.), Bernstein (L. M.), Palm (L.) & Grossman (M. D.). — The effect of protamine on lipemia. *J. Lab. clin. Med.*, 1956, **47**, 270-277. (Voir aussi [87, 171, 172, 197, 379, 390, 392].)

286. Monkhouse (F. C.), Mac Clain (F.) & Baker (D. G.). — Action of protamine on production and activity of heparin-induced clearing factor. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1959, **102**, 50-53.

287. Monkhouse (F.-C.) & Mac Kneson (R. G.). — A controlled assay of clearing factor, and its application in studies of the role of heparin in clearing factor production. *Can. J. biochem. Physiol.*, 1958, **36**, 1065-1074.

288. Monkhouse (F. C.), Strachan (J.) & Mac Clain (F.). — Studies on clearing factor lipase (C.F.L.) of postheparin plasma. *Can. J. biochem. Physiol.*, 1961, **39**, 1027-1036.

289. Mora (R.), Rebeyrotte (P.) & Polonovski (J.). — Influence des substances tensio-actives sur la mobilité électrophorétique des lipoprotéines plasmatiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1955, **37**, 957-968.

290. Morris (B.) & French (J. E.). — The uptake and metabolism of ^{14}C labelled chylomicron fat by the isolated perfused liver of the rat. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1958, **43**, 180-188.

291. Muehrcke (R. C.), Kark (R. M.), Pirani (C. L.) & Schoenberger (J. A.). — Serial kidney biopsy studies in patients with the nephrotic syndrome. *J. Lab. clin. Med.*, 1954, **44**, 901-902.

292. Muhlbachova (E.), Wenke (M.), Wenkeova (J.) & Hynie (S.). — On the enhancement of esterolytic serum activity by protamine sulphate administration. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1961, **134**, 408-416. (Voir aussi [434].)

293. Nagler (F. P. O.). — Observations on a reaction between the lethal toxin of *Cl. welchii* (A) and human serum. *Brit. J. exp. Path.*, 1939, **20**, 473.

294. Nakatani (M.), Nakamura (M.) & Torii (S.). — A study of lipoprotein lipase produced by perfusion of isolated rabbit heart with heparin. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1961, **107**, 853-856.

295. Nestel (P. J.) & Havel (R. J.). — Lipoprotein lipase in human adipose tissue. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1962, **109**, 985-987.

296. Nichols (A. V.), Freeman (N. K.), Shore (B.) & Rubin (L.). — The interaction of « heparin active factor » and lipoproteins. *Circulation,* 1952, **6**, 457-458. (Voir aussi [364, 297, 184, 254, 372, 249, 183, 378, 186, 154].)

297. Nichols (A. V.), Rubin (L.) & Lindgren (F. T.). — Interaction of heparin active factor and egg-yolk lipoprotein. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.,* 1954, **85**, 352-355.

298. Nikkila (E.). — The effect of heparin on serum lipoproteins. *Scand. J. clin. Lab. Invest.,* 1952, **4**, 369-370.

299. Nikkila (E.). — Partial purification of clearing factor of post heparin human plasma. *Biochim. biophys. Acta,* 1958, **27**, 612-617.

300. Nivet (R.). — Recherches analytiques et biochimiques sur la salicylémie. Thèse Doct. Méd., Bordeaux, 1950.

301. Nivet (R.). — Recherches physico-chimiques et physiopathologiques sur le cholestérol du sérum sanguin. Thèse Doct. Pharm., Bordeaux, 1955.

302. Oncley (J. L.), Gurd (F. R. N.) & Melin (M.). — Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXV. Composition and properties of human serum beta lipoprotein. *J. Amer. chem. Soc.,* 1950, **72**, 458-464.

303. Paramelle (B.) & Lemarchands (H.). — Sur l'estimation du pouvoir clarifiant du plasma. *C.R. Acad. Sci.,* 1960, **250**, 952-954.

304. Paramelle (B.), Potocki (B.) & Savier (A.). — Un dosage amélioré du pouvoir clarifiant du plasma. *J. Physiol.,* 1961, **53**, 438-439.

305. Pav (J.) & Wenkeova (J.). — Significance of adipose tissue lipoprotein lipase. *Nature,* 1960, **185**, 926-927.

306. Petermann (M. L.). — The effect of lecithinase on human serum globulins. *J. biol. Chem.,* 1946, **162**, 37-42.

307. Pierce (F. T. Jr.). — The interconversion of serum lipoproteins *in vivo. Metabolism,* 1954, **3**, 142-153.

308. Pilgeram (L. O.). — Deficiencies in the lipoprotein lipase system in atherosclerosis. *J. Geront.,* 1958, **13**, 32-42.

309. Pilgeram (L. O.) & Rose (L. C.). — Partial characterization of a lipemia clearing defect in atherosclerosis. *Circulation,* 1956, **14**, 502-503.

310. Placer (Z.), Slabochova (Z.) & Roubal (Z.). — Raised serum esterase activity after administration of saponin ester sulphate. *Physiol. bohemosloven,* 1959, **8**, 412-415.

311. Placer (Z.), Slabochova (Z.) & Roubal (Z.). — Antilipœmic activity of artificial and natural heparinoïds. *Ceskoslor gastroenterol. vyziva,* 1960, **14**, 225-228.

312. Plotka (C.) & Jequier (R.). — Dissociation des effets de l'héparine : la N-(3,5-diméthylbenzoyl) N-désulfohéparine.

Etude de ses propriétés clarifiantes et antilipémiques. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1960, **126**, 140-153.

313. Pollak (O. J.). — Studies in atherosclerosis. VI. Albumin as stabilizer of cholesterol sols. *Geriatrics*, 1951, **6**, 182-191.

314. Polonovski (J.), Rey (J.), Bard (D.), Frezal (J.) & Lamy (M.). — Modification des lipides plasmatiques après ingestion d'huile chez trois enfants normaux et dans un cas d'absence congénitale de β-lipoprotéines. *Rev. franç. Et. clin. biol.*, 1961, **10**, 1006-1013.

315. Poltronieri (P.), Venco (S.) & Ghelfi (N.). — Studio sull' azione di un nuovo eparinoïde, non anticoagulante sopra i lipidi del siero e del plasma. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1959, **14**, 37-45.

316. Popjak (G.) & Mac Carthy (E. F.). — The osmotic pressure of defatted human serum. *Biochem. J.*, 1943, **37**, 702-705.

317. Popjak (G.) & Mac Carthy (E. F.). — Osmotic pressures of experimental and human lipœmic sera. Evaluation of albumin-globulin ratios with the aid of electrophoresis. *Biochem. J.*, 1946, **40**, 789-803.

318. Popjak (G.) & Mac Carthy (E. F.). — The possible influence of lipids on the osmotic pressure of serum proteins. *Disc. Faraday Soc.*, 1949, 6355.

319. Porges (O.) & Neubauer (E.). — *Biochem. Z.*, 1908, **7**, 152. Cité par Tayeau (F.), dans : III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 35.

320. Randrup (A.). — A specific and reasonably accurate method for routine determination of plasma triglyceride. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1960, **12**, 1-9.

321. Reber (K.) & Studer (A.). — Experimenteller Beitrag zur Frage der Klärfaktoraktivierung. *Experientia*, 1958, **14**, 462-463. (Voir également [370, 288].)

322. Reber (K.), Studer (A.), Tobler (R.) & Koller (F.). — Dosiswirkungs-relation von N. Formyl-chitosan-polyschwefelsaüreester (Ro 1-8307) hinsichtlich Klärfaktoraktivierung und Gerinnungshemmung im Vergleich mit Heparin im Tierversuch und am Menschen. *Acta haemat.*, 1959, **21**, 31-35.

323. Regazzini (A.) & Rodari (T.). — Studio comparativo sulla chiarificazione plasmatica indotta dalla somministrazione di un preparato mucinico gastrico de maïale e di eparina sodica. *Arch. Sci. med.*, 1958, **106**, 691-701.

324. Reubi (F.). — Les quotients lipidiques du sérum chez les hépatiques. *Helv. med. Acta*, 1948, **15**, 191-202.

325. Reubi (F.). — L'influence du foie sur la constitution des lipoprotéines sériques. *Helv. med. Acta*, 1948, **15**, 262-280.

326. Reubi (F.) & Schmid (A.). — L'hyperlipémie du syndrome néphrotique est-elle d'origine rénale ? *J. Urol. méd. chir.*, 1955, **61**, 304.

327. Robinson (D. S.). — The chemical composition of chylomicra in the rat. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1955, **40**, 112-126.

328. Robinson (D. S.). — Studies on the lipolytic system induced in plasma by heparin injection *Biochem. J.*, 1956, **62**, 18 P - 19 P.

329. Robinson (D. S.). — Changes in the lipolytic activity of the guinea pig mammary gland at parturition. *J. Lip. Res.*, 1963, **4**, 21-23. (Voir aussi [338, 339].)

330. Robinson (D. S.) & French (J. E.). — The role of albumin in the interaction of chyle and plasma in the rat. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1953, **38**, 233-239.

331. Robinson (D. S.) & French (J. E.). — Heparin, the clearing factor lipase and fat transport. *Pharmacol. Rev.*, 1960, **12**, 241-263. (Voir aussi [389].)

332. Robinson (D. S.) & Harris (P. M.). — The production of lipolytic activity in the circulation of the hind limb in response to heparin. *Biochem. J.*, 1958, **69**, 31 P.

333. Robinson (D. S.) & Harris (P. M.). — The production of lipolytic activity in the circulation of the hind limb in response to heparin. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1959, **44**, 80-90.

334. Robinson (D. S.), Harris (P. M.) & French (J. E.). — Changes in the solubility of cholesterol during the interaction of chyle and plasma. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1956, **41**, 309-317.

335. Robinson (D. S.), Harris (P. M.), Poole (J. C. F.) & Jeffries (G. M.) — The effect of a fat meal on the concentration of free fatty acids in human plasma. *Biochem. J.*, 1955, **60**, XXXVII.

336. Robinson (D. S.), Harris (P. M.) & Ricketts (C. R.). — The lipolytic activity of rat plasma after the intravenous injection of various dextran sulphates. *Biochem. J.*, 1958, **69**, 11 P - 12 P.

337. Robinson (D. S.), Harris (P. M.) & Ricketts (C. R.). — The production of lipolytic activity in rat plasma after the intravenous injection of dextran sulfate. *Biochem. J.*, 1959, **71**, 286-292.

338. Robinson (D. S.), Jeffries (G. H.) & French (J. F.). — Studies on the interaction of chyle and plasma in the rat. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1954, **39**, 165-176. (Voir aussi [339].)

339. Robinson (D. S.), Jeffries (G. H.) & Poole (J. C. F.). — Further studies on the interaction of chyle and plasma in the rat. *Quart. J. exp. Physiol.*, 1955, **40**, 297-308.

340. Robinson (D. S.) & Seakins (A.). — Reduced plasma lipoprotein production as a factor in the development of fatty livers. *In* Frazer (A. C.): Biochemical Problems of Lipids (Elsevier), Amsterdam, 1963, 359.

341. Rodbell (M.). — N-terminal amino-acid and lipid composition of lipoproteins from chyle and plasma. *Science,* 1958, **127**, 701.

342. Rodbell (M.) & Fredrickson (D. S.). — Nature of the proteins associated with dog and human chylomicrons. *J. biol. Chem.,* 1959, **234**, 562-566.

343. Rosenman (R. H.) & Byers (S. O.). — Lipoprotein-lipase metabolism in experimentally nephrotic rats. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1960, **103**, 31-36.

344. Rosenman (R. H.), Friedman (M.) & Byers (S. O.). — The distribution of cholesterol and total lipids in the nephrotic rat. *J. clin. Invest.,* 1955, **34**, 700-703.

345. Rosenman (R. H.) & Smith (M. K.). — Relationship between concentrations of albumin and lipids in plasma of experimentally nephrotic rats. *Amer. J. Physiol.,* 1957, **191**, 40-44.

346. Roubal (Z.), Trcka (V.), Placer (Z.) & Hornacek (J.). — Antiproteolytic, antilipemic, and anticoagulant effect of some new heparinoids. Xth Anniversary Res. Inst. Pharm. Biochem., Prague, 1961, 143-156.

347. Rubin (S. H.). — The plasma and red blood cells lipids in persistant diabetic lipemia and in transient alimentary lipemia. *J. biol. Chem.,* 1939, **131**, 691.

348. Rudman (D.), Di Girolamo (M.), Kendall (F. E.), Wertheim (A. R.), Seidman (F.), Reid (M. B.) & Bern (S.). — Further observations on the effect of pituitary gland extracts upon the serum lipids of the rabbit. *Endocrinology,* 1960, **67**, 784-800.

349. Sailer (S.), Sandhofer (F.) & Braunsteiner (H.). — Steuerung der endogenen Lipoproteid-Lipase - Aktivität im Plasma bei Normalpersonen und Patienten mit essentieller Hyperlipämie. *Dtsche med. Wschr.,* 1965, **90**, 865-868.

350. Salt (H.), Wolff (H.), Lloyd (J.), Fosbrooke (A.), Cameron (A.) & Hubble (D.). — On having no beta-lipoprotein. A syndrome comprising a beta-lipoproteinema, acanthocytosis, and steatorrhea. *Lancet,* 1960, **2**, 325-329.

351. Sandhofer (F.), Sailer (S.), Herbst (M.) & Braunsteiner (H.). — Untersuchungen über die Post-Heparin-Lipoproteidlipase - Aktivität bei sechs Fällen von essentieller Hyperlipämie. *Dtsche med. Wschr.,* 1965, **90**, 755-759.

352. Scanu (A.) & Oriente (P.). — Triton hyperlipemia in dogs. I. *In vitro* effects of the detergent on serum lipoproteins and chylomicrons. *J. exp. Med.,* 1961, **113**, 735-757.

353. Scanu (A.), Oriente (P.), Szajwski (J.-M.), Mac Cormack (L. J.) & Page (I. H.). — Triton hyperlipemia in dogs. III. Atherosclerosis, diffuse Lipidosis, and depletion of fat Stores produced by prolonged administration of the non - ionic surface - active agent. *J. exp. Med.*, 1961, **114**, 279-294.

354. Scanu (A.) & Page (I. H.). — Separation and characterization of human serum chylomicrons. *J. exp. Med.*, 1959, **109**, 239-256.

355. Scardigli (G.), Salvini (L.) & Aradas (A.). — L'absorption de l'héparine par voie sublinguale. *Presse méd.*, 1955, **63**, 1140-1141.

356. Schuler (W.), Muller (G.) & Maier (F.). — Lipämicklärung *in vivo* ohne clearing-factor. *Schweiz. med. Wschr.*, 1957, **87**, 787-790.

357. Seifter (J.) & Baeder (D. H.). — Lipemia clearing by hyaluronidase, hyaluronate and desoxycorticosterone and its inhibition by cortisone, stress and nephrosis. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1954, **86**, 709-713.

358. Seifter (J.) & Baeder (D. H.). — Influence of calcium and serum albumin on clearing of lipemic dog plasma *in vitro*. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1955, **89**, 511-514. (Voir aussi [18, 19, 123, 308].)

359. Seifter (J.) & Baeder (D. H.). — Occurrence in plasma of an extractable lipid mobilizer (L.M.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1956, **91**, 42-45.

360. Seifter (J.) & Baeder (D. H.). — Relation of endocrines and clearing factor inhibitors to hyperlipemia in rasted animals. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1956, **93**, 63-67.

361. Sekimoto (H.). — Studies on Donaggio reaction. II. On the Donaggio reaction-positive substance in the urine and plasma. *Gunma J. med. sci.*, 1956, **5**, 126-144.

362. Shafrir (E.), Sussman (K. E.) & Steinberg (D.). — Role of the pituitary and the adrenal in the mobilization of free fatty acid and lipoproteins. *J. Lipid. Res.*, 1960, **1**, 459-465.

363. Shore (B.), Colvin (M.) & Shore (V. G.). — Substrate specificity of heparin-induced lipase. *Biochim. biophys. Acta*, 1959, **36**, 563-564.

364. Shore (B.), Nichols (A. V.) & Freeman (N. K.). — Evidence for lipolytic action by human plasma obtained after intravenous administration of heparin. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1953, **83**, 216-220.

365. Shore (B.) & Shore (V. G.). — Heparin-released lipolytic and esterolytic activities of human and rabbit plasmas. *Amer. J. Physiol.*, 1961, **201**, 915-922.

366. Shore (B.) & Shore (V. G.). — Physical and chemical properties of the lipoproteins produced by lipolysis of human serum Sf 20-400 lipoproteins by post-heparin plasma. *J. Atheroscler. Res.*, 1962, **2**, 104-114.

367. Shore (B.) & Shore (V. G.). — Hydrolysis of glycerides of C-16 and C-18 fatty acids by post-heparin plasma. *Nature*, 1962, **193**, 163-164.

368. Skorepa (J.) & Novak (S.). — Difference between lipoprotein lipase and post-heparin esterase in human serum. *Nature*, 1958, **182**, 117-118. (Voir également [222, 7, 376].)

369. Skorepa (J.), Prochazka (B.) & Todorovicova (H.). — The relation between clearing factor and human post-heparin esterase. *Csl. Gastro-ent. Viziva*, 1960, **16**, 228-229.

370. Skorepa (J.), Prochazka (B.) & Todorovicova (H.). — Differenciation of post-heparin esterase and heparin clearing factor by means of adsorption on calcium phosphate gel. *Clin. chim. Acta*, 1960, **5**, 296-298.

371. Skorepa (J.), Todorovicova (H.) & Novak (S.). — *Sborn. lék.*, 1958, **60**, 141. Cité par Tayeau (F.) & coll. [24].

372. Sobrino-Simoes (M.). — Sur l'action de l'héparine dans la clarification du plasma. *C.R. Soc. Biol.*, 1953, **147**, 1840-1842.

373. Sollazo (G.) & Cortese (V.). — Sulla reazione del Donaggio. *Boll. chim. farm.*, 1935, **74**, 625-637. (Voir aussi [43, 361, 430, 446].)

374. Soulier (J.-P.) & Alagille (D.). — Etude des lipoprotéines dans l'athérosclérose humaine et expérimentale, par l'électrophorèse et les réactions non spécifiques des protéines. Effet de l'héparine. *Plasma*, 1953, **1**, 439-451.

375. Sperry (W. M.). — Cholesterol esterase in blood. *J. biol. Chem.*, 1935, **111**, 467-478.

376. Spitzer (J. A.) & Spitzer (J. J.). — Effect of liver on lipolysis by normal and post-heparin sera in the rat. *Amer. J. Physiol.*, 1956, **185**, 18-22.

377. Spitzer (J. J.). — Influence of protamine on alimentary lipemia. *Amer. J. Physiol.*, 1953, **174**, 43-45.

378. Spitzer (J. J.). — Heparin and lipid transport. *In:* III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 243-253.

379. Spitzer (J. J.) & Miller (H. I.). — Unesterified fatty acids and lipid transport in dogs. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1956, **92**, 124-126.

380. Stevenson (J. A. F.) & Beaton (J. R.). — Fat-mobilizing substances from the urine of fasting animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1965, **131**, 189-198.

381. Stevenson (J. A. F.), Box (B. M.) & Szlavko (A. J.). — A fat mobilizing anoretic substance in the urine of fasting rats. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1964, **115**, 424-429.

382. Stewart (G. T.). — The action of sulphated polysaccharide upon serum lipids under clinical and experimental conditions. *Brit. J. exper. Pathol.*, 1958, **39**, 109-118.

383. Stickler (G. B.), Wakim (K. G.) & Mac Kenzie (B. F.). — Canine experimental nephrosis. *J. Lab. clin. Med.*, 1956, **48**, 866-878.

384. Stüttgen (G.) & Brüster (H.). — Der Einfluss cutan applizierter Hyaluronidase auf Thrombin-Inhibitor und Klärfaktor des menschlichen Plasmas. *Arch. Klin. exp. Dermatol.*, 1960, **210**, 27-33.

385. Suehiro (M.). — Comparative studies of heparin, dextran sulfate, and charoninsulfuric acid on the formation of lipoprotein lipase. *Takamine Kenkyusko Nempo*, 1960, **12**, 200-203.

386. Suehiro (M.) & Nakanishi (K.). — Lipoprotein lipase. I. Determination of lipoprotein lipase. *J. Biochem., Tokyo*, 1960, **47**, 777-780.

387. Svanborg (A.). — Views on renal hyperlipemia. *Acta med. scand.*, 1953, **147**, 60-62.

388. Swahn (B.). — Studies on blood lipids. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 1953, **5**, suppl. 9.

389. Swank (R. L.) & Levy (S. W.). — Chylomicron dissolution. Dosage and site of action of heparin. *Amer. J. Physiol.*, 1952, **171**, 208-217.

390. Swank (R. L.) & Roth (E. S.). — Hemolysis and alimentary lipemia. Effects of incubation, heparin, and protamine. *Blood*, 1954, **9**, 348-361.

391. Swell (L.) & Treadwell (C. R.). — Cholesterol esterases. III. Occurence and characteristics of cholesterol esterase of serum. *J. biol. Chem.*, 1950, **185**, 349-355.

392. Szasz (G.) & Constantinides (P.). — Effect of protamine on serum cholesterol and serum turbidity in cholesterol-oil fed rats. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1953, **93**, 255-259.

393. Tannhauser (S. J.). — Lipidoses: deseases of the cellular lipid metabolism, 1 vol. (Oxford University Press), New York, 1950.

394. Tayeau (F.). — Sur l'état du cholesterol dans le sérum sanguin. Destruction des cénapses cholestéroprotéidiques par les saponosides. *C.R. Acad. Sci.*, 1941, **212**, 575-577.

395. Tayeau (F.). — Le système lipidoprotéidique du sérum sanguin chez les malades atteints d'ictère par rétention. *C.R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, 240-241.

396. Tayeau (F.). — Biochimie des acides biliaires. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1949, **10**, 251-308.

397. Tayeau (F.). — A propos du dosage du cholestérol sérique par les saponosides. *Ann. Biol. clin.*, 1950, **8**, 602-603.

398. Tayeau (F.). — Isolement et essais de caractérisation de la substance responsable du phénomène d'obstacle de Donaggio. *Tunis. méd.*, 1951, **29**, 664-671.

399. Tayeau (F.). — Le syndrome humoral de la fatigue. *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1954, **16**, 215-252.

400. Tayeau (F.). — Etude sur la cholestérolestérase du sérum sanguin. *Arch. Sci. biol.*, 1955, **39**, 545-553.

401. Tayeau (F.). — Aspect biochimique de la fatigue. *Ass. méd.*, 1962, **20**, 132-136.

402. Tayeau (F.). — Quelques aspects biochimiques de l'athérosclérose. *Rev. méd. Tours*, 1963, **4**, 239-244.

403. Tayeau (F.), Jensen (R.) & Reiss (D.). — Le phénomène d'obstacle de Donaggio. Mécanisme de la réaction. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1959, **41**, 585-595.

404. Tayeau (F.) & Marquevielle (J.). — La mucoproteinuria della fatica ed il fenomeno di ostacolo di Donaggio. *Minerva med.*, 1964, **55**, 852-863.

405. Tayeau (F.) & Marquevielle (J.). — La mucoprotéinurie de la fatigue et le phénomène d'obstacle de Donaggio. *Concours méd.*, 1964, **16**, 3211-3234.

406. Tayeau (F.) & Neuzil (E.). — Les hypoprotéinémies. Rapport XVII[e] Congr. franç. Méd., Genève, 1949 (Masson et C[ie], édit.), 53.

407. Tayeau (F.), Neuzil (E,) & Nivet (R.). — Recherches expérimentales sur la salicylémie (2[e] mémoire) : action du salicylate sur les lipoprotéines du sérum. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1951, **89**, 16-20.

408. Tayeau (F.), Neuzil (E.), Nivet (R.) & Grouillé (J.). — Le phénomène d'obstacle de Donaggio. Recherches physico-pathologiques sur l'apparition de la mucoprotéine urinaire. *J. Physiol.*, 1954, **46**, 536-539.

409. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Estérification du cholestérol sérique et associations lipido-protéidiques. *C.R. Acad. Sci.*, 1955, **240**, 567-569.

410. Tayeau (F.) & Nivet (R.). —L'hypercholestérolémie et l'hypoprotéinémie expérimentales. III[e] Cong. int. Biochim., Bruxelles, 1955. Résumés p. 24.

411. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Un nouvel inhibiteur de l'estérification du cholestérol sérique : les saponosides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1955, **37**, 635-642.

412. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Estérification du cholestérol et lipoprotéines sériques. II[e] Colloq. int. Problèmes des lipides, Gand, 1955. *In :* Biochemical problems of Lipids, 1 vol. (Butterworthes, édit.), London, 1956, 365.

413. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Les mucoprotéines urinaires chez les cancéreux. *J. Méd. Bordeaux,* 1957, **134**, 801-809.

414. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — A propos du rôle des esters du cholestérol dans le transport des graisses. *J. Physiol.,* 1957, **49**, 399-401.

415. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Protéines et sérums lactescents. Rapport III[e] Congr. Soc. int. Est. Grasas, Séville, 1958, 24.

416. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Recherches physico-chimiques sur les sérums lyophilisés. Rapport II[e] Congr. nat. Transfusion sang., Bordeaux, 1958, 515-522.

417. Tayeau (F.), Nivet (R.) & Dumas (M.). — Le vieillissement du sérum sanguin (4[e] mémoire). Nouvelles recherches sur la stabilité des lipoprotéines : action du leucocyanidol. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1956, **95**, 206-210.

418. Tayeau (F.), Nivet (R.), Marquevielle (J.) & Dumas (M.). — Action du leucocyanidol sur le sérum sanguin *in vitro*. *Bull. Soc. Chim. biol.,* 1958, **40**, 671-682.

419. Tayeau (F.), Rolland (R.) & Blanquet (P.). — Recherches sur le métabolisme des acides biliaires chez les cholalémiques. *J. Méd. Bordeaux,* 1948, **125**, 433-438.

420. Thudicum. — *In* Macheboeuf (M.) : Etat des lipides dans la matière vivante, 1 vol. (Hermann & C[ie], édit.), Paris, 1937.

421. Vaillaud (J.-C.), Revol (A.), Biot (N.), Trouyez (R.) & Sarrouy (Ch.). — Xanthomatose tendineuse hypercholestérolémique familiale. II. Exploration biochimique. *Sem. Hôp. Paris,* 1966, **42**, 1622-1634.

422. Van den Bosch (J.), Evrard (E.), Billian (A.), Somer (P. de) & Jossens (J. V.). — The influence of a new test p. octylphenol derivate on the clearing factor and on the plasma lipids of rabbits. *J. Atherosclerosis Res.,* 1961, **1**, 148-162.

423. Velluz (L.), Muller (G.), Jequier (R.) & Plotka (C.). — Ethynylated derivatives related to adrenosterone and a steroidal effect on experimental hyperlipœmia. *J. Amer. chem. Soc.,* 1958, **80**, 2026.

424. Velluz (L.), Plotka (C.) & Noming (G.). — Dissociation des effets de l'héparine. *C.R. Acad. Sci.,* 1958, **247**, 2203-2204.

425. Waldron (J. M.) & Friedman (M. H.) — The relationship between anticoagulants and lipemia *Fed. Proc.,* 1948, **7**, 130.

426. Wandell (W. R.) & Geyer (R. P.). — Effect of insulin on clearance of emulsified fat from the blood in depancreatized dogs. *Proc. Soc. exp. Biol.,* 1957, **96**, 251-255.

427. Warembourg (H.), Bertrand (M.), Sezille (G.) & Biserte (G.). — L'épuration lipidique plasmatique chez l'athéroscléreux. I. L'épuration plasmatique des graisses injectées par voie intraveineuse. *In :* Protides of the biological

Fluids, 1965 (Elsevier publishing company), Amsterdam, 1966, 327.

428. Warembourg (H.), Biserte (G.), Jaillard (J.), Bertrand (M.) & Sezille (G.). — Sur l'épuration lipidique plasmatique de l'athéroscléreux. *Bull. Acad. Méd.*, 1967, **151**, 507-511.

429. Warembourg (H.), Jaillard (J.), Sezille (G.) & Biserte (G.). — L'épuration lipidique plasmatique chez l'athéroscléreux. II. Dosage de l'activité lipolytique dans le plasma post-héparine (étude comparative chez les sujets normaux et les athéroscléreux). *In :* Protides of the biological Fluids, 1965 (Elsevier publishing company), Amsterdam, 1966, 335.

430. Waterman (N.). — Glucoproteins as the material bases of immunology in cancer. *Enzymologia,* 1956, **17**, 305-314.

431. Weil (R.) & Stetten (W. de, Jr.). — Urinary excretion of fat-mobilizing agent. *J. biol. Chem.*, 1947, **168**, 129-132.

432. Weld (C. B.). — Alimentary lipemia and heparin. *Canad. med. Ass. J.*, 1944, **51**, 578.

433. Weld (C. B.). — A paper electrophoresis study of the chylomicron and the clearing reaction. III[rd] int. Conf. biochem. Problems Lipids, 1 vol. (Paleis der Academien, edit.), Brussels, 1956, 274-276.

434. Wenke (M.), Wenkeova (J.), Mühlbachova (E.) & Hynie (S.). — Relation between the heparin dose and the esterolytic activity level in the blood serum of rats. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1961, **134**, 417-425.

435. Werner (I.). — Regeneration of serum polysaccharide and serum proteins in normal and intoxicated rabbits. *Acta physiol. scand.*, 1949, **19**, 27-42.

436. Williams (G. R.). — Lipoprotein transformations under influence of heparin and *Clostridium welchii* α-toxin. *Biochim. biophys. Acta,* 1954, **13**, 72-79.

437. Wolff (R.) & Brignon (J.-J.). — Recherches sur le dosage de l'activité clarifiante produite par injection de substances de type héparinoïde. *C.R. Soc. Biol.*, 1959, **153**, 150-152.

438. Wolff (R.). & Brignon (J.-J.). — Etude comparée de l'activité clarifiante *in vitro* du sérum après injection de diverses substances héparinoïdes. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1959, **121**, 255-267.

439. Wolff (R.), Brignon (J.-J.) & Schemberg (M.). — Le dosage de la lipoprotéine lipase dans le plasma post-héparine chez l'Homme. *C.R. Soc. Biol.*, 1961, **155**, 575-577.

440. Wolff (R.), Brignon (J.-J.) & Schemberg (M.). — Présence dans certains sérums pathologiques d'un facteur inhibiteur de la lipoprotéine-lipase. Son dosage. *C.R. Soc. Biol.*, 1961, **155**, 1533-1535.

441. Wolff (R.), Brignon (J.-J.) & Schemberg (M.). — Mesure de l'activité lipoprotéine-lipasique et du pouvoir inhibiteur de la clarification d'un plasma sanguin. *Ann. Biol. clin.*, 1962, **20**, 957-963.

442. Wolff (R.) & Larcan (A.). — Recherches concernant la clarification plasmatique au cours des « hyperlipémies essentielles ». *Path. Biol.*, 1964, **12**, 434-438.

443. Wolff (R.) & Wolff (J.). — Recherches récentes sur le facteur clarifiant en pathologie. *Arch. Mal. Cœur*, 1960, **2**, 19-29.

444. Wolfson (W. Q.) & Penwarden (B. H. Jr.). — Detection by paper electrophoresis of rapid changes in protein and lipoprotein distribution during heparin-induced clearing of alimentary lipœmia. *Nature*, 1957, **179**, 676-677.

445. Yamada (K.). — Treatment of arteriosclerosis vitamins and sulfuric esters of polysaccharides. *Japan Heart J.*, 1961, **2**, 281-296.

446. Yamazoe (S.), Shimuzu (Y.) & Ikeda (M.). — Studies on the Donaggio's reaction. XVII. The nature of the positive reacting substances. *Igaku to Seibutsugaku* (*Med. Biol.*), 1950, **16**, 232-234.

447. Yasugi (T.), Gofman (J. W.), Lalla (O. F. de), Templin (A. R.) & Oshiam (K.). — Relationships of blood heparin levels to serum lipoproteins and cholesterol levels in gasting subjects *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1958, **98**, 46-49.

448. Yoshitoshi (Y.), Naito (C.), Okaniwa (H.), Usui (M.), Mogami (T.) & Tomono (T.). — Kinetic studies on metabolism of lipoprotein lipase. *J. clin. Invest.*, 1963, **42**, 707-713.

449. Zemplenyi (T.) & Grafnetter (D.). — Species and sex differences in fatty acid release by tissues incubated with lipœmic human serum. *Brit. J. exp. Path.*, 1958, **39**, 99-108.

450. Zemplenyi (T.) & Grafnetter (D.). — Fatty acid release on incubation of lipœmic serum with rat tissues. The influence of heparin and fasting. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1959, **122**, 57-66.

451. Zinn (W. J.), Field (J. B.) & Griffith (G. C.). — Effect of heparin and Treburon in postprandial hyperlipemia. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1952, **80**, 276-278.

452. Zollner (N.), Frings (H. D.) & Rothemund (E.). — Ueber die Bildung des Lipämieklärungsfactors *in vitro*. Versuche zur quantitativen Bestimmung. *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.*, 1957, **307**, 112-123. (Voir également [89, 106].)

453. Zollner (N.), Rothemund (E.) & Seitz (W.). — Ein antilipämisches, nicht gerinnungshemmendes Abbauprodukt des Heparins. *Klin. Wschr.*, 1954, **32**, 1096-1097.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 1

PREMIERE PARTIE

Notions fondamentales et acquisitions récentes concernant les lipoprotéines sériques et la lipoprotéine-lipase.

Introduction 7

CHAPITRE PREMIER

Les lipoprotéines sériques 9

Conclusions du chapitre premier 15

CHAPITRE II

Le facteur clarifiant 16

I. Nature du facteur clarifiant 17

A) Copule protéidique 17

B) Copule glucidique 17

II. Facteur clarifiant spontané 20

III. Activité du facteur clarifiant 22

IV. Activateurs et inhibiteurs du facteur clarifiant 27

Conclusions du chapitre II 32

DEUXIEME PARTIE

Recherches personnelles.

Introduction 35

CHAPITRE PREMIER

L'hyperlipémie par saignées répétées 38

I. Variations des fractions lipidiques 39

II. Comportement des lipoprotéines du sérum hyperlipémique 44

Conclusions du chapitre premier 47

Pages

CHAPITRE II

HYPERLIPÉMIE ET FACTEUR CLARIFIANT 48
I. Hypothèses diverses sur le mécanisme d'apparition des hyperlipémies 48
II. Action du facteur clarifiant 52
III. Mucoprotéines et facteur clarifiant 54
CONCLUSIONS DU CHAPITRE II 58

CHAPITRE III

ETUDE DE L'ACTIVITÉ DE LA LIPOPROTÉINE-LIPASE ET DE SON INHIBITION « IN VITRO » PAR CERTAINES MUCOPROTÉINES .. 59
I. Action d'un plasma post-hépariné sur une suspension de triglycérides 59
II. Action des mucoprotéines urinaires sur le phénomène de clarification 62
A) Isolement de la mucoprotéine 62
B) Clarification en présence de mucoprotéines 63
III. Action d'un sérum hyperlipémique sur le phénomène de clarification 66
CONCLUSIONS DU CHAPITRE III 67

CHAPITRE IV

ETUDE DE L'ACTION INHIBITRICE, « IN VIVO », DES MUCOPROTÉINES SUR LA FORMATION ET L'ACTIVITÉ DU FACTEUR CLARIFIANT .. 68
CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV 78

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 79

BIBLIOGRAPHIE 81

Bordeaux. — Impr. E. DROUILLARD, 3, place de la Victoire.

DEUXIÈME THÈSE

SYNTHÈSE TOTALE DE L'INSULINE

Vu :
Le Doyen,
F. TAYEAU.

Vu, bon à imprimer :
Le Président de la thèse,
F. TAYEAU.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 4 octobre 1968

Le Recteur,
J. BABIN.